

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra botaniky a fyziologie rostlin**



**Klíčení rodu čirok (*Sorghum*) při nízkých teplotách**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Marie Lhotská**

**Obor studia: Ekologické zemědělství**

**Vedoucí práce: Ing. Jaroslava Martinková, Ph.D.**

© 2019 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Klíčení rodu čirok (*Sorghum*) při nízkých teplotách" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucí diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 11. 4. 2019

---

## **Poděkování**

Ráda bych na tomto místě poděkovala, paní Ing. Jaroslavě Martinkové, Ph. D. za její vedení, podporu a pomoc při psaní této diplomové práce – velké a upřímné díky. Připojuji také poděkování Katedře botaniky a fyziologie rostlin, pod jejímž vedením byl výzkum prováděn a Genové bance VÚRV, v.v.i. za poskytnutí testovaného osiva. V neposlední řadě, patří toto poděkování, také mojí rodině a přátelům, za jejich lásku a podporu.

# Klíčení rodu čirok (*Sorghum*) při nízkých teplotách

## Souhrn

Cílem práce bylo zhodnotit klíčení rostlin vybraných odrůd zrnového čiroku (*Sorghum bicolor* L. Moench) při působení nízké teploty. Čirok je teplomilnou plodinou, na kterou nízká teplota může mít negativní vliv. Naopak velmi dobře snáší horší půdní podmínky, zasolení a dlouhodobější sucho, po kterém se velmi rychle regeneruje již při příchodu prvních srážek. Na nízké teploty je čirok citlivý především ve fázi klíčení a vzházení. V našich podmínkách se v současnosti pěstuje velmi zřídka i přesto, že jeho možnosti využití jsou velmi široké. Je možné jej využít jako bezlepkovou potravinu, prostředek k výrobě bioplynu nebo třeba jako krmnou plodinu, a to buď v sušeném stavu, nebo jako jadrné krmivo pro skot a drůbež. V současnosti je zkoumán také pro remediační účely. Fluorescence chlorofylu slouží jako jedna z nejčasnějších možností predikce projevu stresu u rostlin. Touto metodou je možné zaznamenat negativní vliv stresoru ještě před vnějším projevem. Stres z působení nízké teploty je také provázán s nedostatkem vody (stres ze sucha). A proto cílem tohoto a mnoho dalších výzkumů je najít odrůdy vhodné do těchto podmínek se záměrem využití jejich odolnosti v dalším šlechtění. V tomto pokusu byly testovány tři odrůdy zrnového čiroku ve třech teplotních variantách klíčení (15 °C, 17 °C a 20 °C). Působení nízkých teplot během klíčení a růstu v řízených podmínkách bylo pozorováno na různých charakteristikách růstu. Mimo běžnější sledované charakteristiky, během klíčení a růstu, byly pozorovány i reakce rostliny na úrovni fotosystému II (PSII) pomocí metody chlorofylové fluorescence. Z výsledků byly kladně vyhodnoceny odrůdy RCAT 016982 (RCAT) a Ruzrok (RUZ). Tyto odrůdy jsou doporučeny pro další výzkum v této problematice.

**Klíčová slova:** nízká teplota, čirok, *Sorghum*, klíčení, fluorescence

# Germination of the genus sorghum (*Sorghum*) at low temperatures

## Summary

The aim of this thesis was appraisal of the effect of the low temperature on different varieties of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) while sorghum germinates. Sorghum is crop which requires higher temperatures for growth. Low temperature can have a negative effect on its growth. On the other side it is suitable crop for using in worse environmental conditions. It could be for example worse soil conditions, salinity area or drought climate. After long-time of drought the sorghum regenerates very easily with first rainfall. This crop is more sensitive to chilling when it germinates and emerges. The sorghum is cultivated in Czech Republic only infrequently although this plant has wide range of uses. The example of using can be for food, material to produce biogas or feed (dry or grain) for cattle and poultry. At present there are researches of this plant for phytoremediation using too. The fluorescence of chlorophyll could be used for early identification of plant stress. This method shows negative influence of stressor before it can be visible. The chilling stress is connected to drought stress. Therefore our experiment and many others try to find the varieties which are tolerant to these conditions. These varieties could be used to next selection to chilling stress. In this thesis three varieties of grain sorghum were chosen and three different temperatures of germination (15 °C, 17 °C and 20 °C). These plants were growing under controlled conditions in air-conditioned box. The effect of these temperatures were detected in ordinary characteristics during germination and early growing stages. Apart from ordinary characteristics there were detected reactions in photosystem II (PSII) level by chlorophyll fluorescence methods. From the results of our research the varieties RCAT 016982 (RCAT) and Ruzrok (RUZ) can be of use for the next research because these varieties were evaluated as suitable for growing under chilling stress.

**Keywords:** low temperature, chilling stress, *Sorghum*, germinating, chlorophyll fluorescence

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>12</b>
<b>2 Cíl práce</b> .....	<b>13</b>
<b>3 Literární rešerše</b> .....	<b>14</b>
<b>3.1 Čirok</b> .....	<b>14</b>
3.1.1 Charakteristika rodu.....	14
3.1.2 Využití čiroku .....	16
3.1.3 Rozdělení .....	18
3.1.3.1 Čirok obecný nebo též zrnový ( <i>Sorghum vulgare</i> var. <i>eusorghum</i> ) .....	18
3.1.3.2 Čirok technický též metlový ( <i>Sorghum vulgare</i> var. <i>technicum</i> ) .....	18
3.1.3.3 Čirok cukrový ( <i>Sorghum vulgare</i> var. <i>saccharatum</i> ).....	19
3.1.3.4 Čirok súdánský též súdánská tráva ( <i>Sorghum vulgare</i> var. <i>sudanense</i> ) .....	19
<b>3.2 Nízká teplota</b> .....	<b>22</b>
3.2.1 Faktory ovlivňující působení stresu .....	23
3.2.1.1 Doba a délka trvání.....	23
3.2.1.2 Stupeň aklimace.....	23
3.2.1.3 Citlivost rostliny .....	23
3.2.2 Fyziologické příčiny chladového stresu .....	24
3.2.2.1 Souvislost mezi nízkou teplotou a suchem .....	24
3.2.2.2 Změny vyvolané na morfologické úrovni .....	25
3.2.2.3 Fyziologické a biochemické reakce vyvolané chladem.....	25
3.2.2.4 Reakce na stres na molekulární úrovni .....	26
3.2.2.5 Působení nízké teploty na klíčení.....	27
<b>3.3 Fotosyntéza</b> .....	<b>29</b>
3.3.1 Specializovaný orgán – list .....	29
3.3.1.1 Chloroplasty .....	30
3.3.2 Rozdělení a průběh fotosyntézy.....	31
3.3.2.1 Fotosyntetické komplexy.....	31
3.3.3 Světelná fáze .....	33
3.3.3.1 Fotofosforylace.....	34
3.3.4 Temnostní fáze.....	35
3.3.4.1 Benson-Calvinův cyklus – fotosyntetický typ C3.....	35
3.3.4.2 Hatch-Slack-Karpilův cyklus – C4 .....	36
<b>3.4 Fluorescence chlorofylu a</b> .....	<b>40</b>
3.4.1 Fyziologie fluorescence chlorofylu .....	40
3.4.2 Využití fluorescence .....	41

3.4.3	Terminologie a zjišťované parametry při fluorescenci .....	41
3.4.4	De-excitační dráhy excitovaného chlorofylu .....	42
<b>4</b>	<b>Metodika .....</b>	<b>43</b>
<b>4.1</b>	<b>Rostlinný materiál .....</b>	<b>43</b>
4.1.1	Popis testovaných odrůd .....	43
<b>4.2</b>	<b>Vlastní pokus .....</b>	<b>43</b>
4.2.1	Klíčení semen .....	43
4.2.2	Vzcházení a růst .....	44
<b>4.3</b>	<b>Metody měření .....</b>	<b>45</b>
4.3.1	Počet vzešlých rostlin .....	45
4.3.2	Výška rostliny, délka a šířka listu .....	45
4.3.3	Fluorescence a obsah chlorofylů v listech .....	45
4.3.4	Hmotnost sušiny .....	46
<b>4.4</b>	<b>Zaznamenávání a zpracování výsledků .....</b>	<b>46</b>
<b>4.5</b>	<b>Dokumentace pokusu .....</b>	<b>46</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>47</b>
<b>5.1</b>	<b>Klíčivost semen 3. a 6. den po zasetí .....</b>	<b>47</b>
<b>5.2</b>	<b>Počet vzešlých rostlin .....</b>	<b>48</b>
<b>5.3</b>	<b>Průměrná výška rostliny .....</b>	<b>49</b>
<b>5.4</b>	<b>Průměrná délka listu .....</b>	<b>50</b>
<b>5.5</b>	<b>Průměrná šířka listu .....</b>	<b>51</b>
<b>5.6</b>	<b>Fluorescence (<math>F_v/F_m</math>) .....</b>	<b>52</b>
<b>5.7</b>	<b>Obsah chlorofylů .....</b>	<b>53</b>
<b>5.8</b>	<b>Průměrná hmotnost sušiny .....</b>	<b>55</b>
<b>5.9</b>	<b>Srovnání jednotlivých odrůd podle všech stanovených hodnot .....</b>	<b>56</b>
5.9.1	Odrůda Ruzrok (RUZ) .....	56
5.9.2	Odrůda Barnards Red (BR) .....	56
5.9.3	Odrůda RCAT 016982 (RCAT) .....	57
<b>6</b>	<b>Diskuze .....</b>	<b>58</b>
<b>6.1</b>	<b>Počet vyklíčených semen .....</b>	<b>58</b>
<b>6.2</b>	<b>Počet vzešlých rostlin, výška rostliny, délka a šířka listu .....</b>	<b>59</b>
<b>6.3</b>	<b>Fotosyntéza, fluorescence chlorofylu <i>a</i> a obsah chlorofylů .....</b>	<b>60</b>
<b>6.4</b>	<b>Hmotnost sušiny .....</b>	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>63</b>
<b>7.1</b>	<b>Cíle a hypotézy práce .....</b>	<b>63</b>
<b>7.2</b>	<b>Další získané závěry .....</b>	<b>63</b>
<b>7.3</b>	<b>Doporučení pro praxi a další výzkum .....</b>	<b>64</b>
<b>8</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>65</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů .....</b>	<b>74</b>

<b>10 Samostatné přílohy .....</b>	<b>I</b>
<b>10.1 Množství vyklíčených semen 3. den .....</b>	<b>I</b>
<b>10.2 Množství vyklíčených semen 6. den .....</b>	<b>I</b>
<b>10.3 Počet vzešlých rostlin .....</b>	<b>II</b>
<b>10.4 Průměrná výška rostliny .....</b>	<b>II</b>
<b>10.5 Průměrná délka listu.....</b>	<b>III</b>
<b>10.6 Průměrná šířka listu .....</b>	<b>III</b>
<b>10.7 Fluorescence (<math>F_v/F_m</math>) .....</b>	<b>III</b>
<b>10.8 Obsah chlorofylů .....</b>	<b>IV</b>
<b>10.9 Průměrná hmotnost sušiny.....</b>	<b>IV</b>
<b>10.10 Fotodokumentace pokusu.....</b>	<b>V</b>
10.10.1 Rostliny 2. týden po přesazení .....	V
10.10.2 Rostliny 3. týden po přesazení .....	VI
10.10.3 Rostliny 4. týden po přesazení .....	VII
10.10.4 Rostliny 5. týden po přesazení .....	VIII



# 1 Úvod

Čirok je důležitou obilninou chudších oblastí světa. Má široké spektrum využití od potravin, přes technické až remediační možnosti využití. Podle některých autorů je plodinou, která se pěstuje v drsných podmínkách, kde jiné plodiny nedokážou růst. Snáší sucho, horší půdní podmínky, zasolení a díky pevnému zakořenění i silný vítr. Má ale vyšší nároky na teplotu, oproti jiným plodinám. Jeho použití je v současné době omezeno špatnou adaptací na nízké teploty především během klíčení. Protože patří mezi teplomilné plodiny, je termín jeho výsevu posunutý nejdříve na květen. Čirok má proto posunutou také vegetační dobu a v době dozrávání je jeho výnos často snižován kolísajícími podmínkami vnějšího prostředí.

Protože je čirok (stejně jako kukuřice) rostlinou s typem fotosyntézy C4 jeho reakce na působení nízké teploty se mohou lišit oproti jiným běžně pěstovaným plodinám. Tyto rostliny mají vyšší teplotní optimum, a proto už při teplotě mezi 10 a 20 °C mohou vykazovat známky stresu. Zatímco kukuřice se v našich oblastech běžně pěstuje mnoho let, čirok je využíván jen velmi okrajově. Také ve šlechtění nových tolerantnějších odrůd je oproti kukuřici pozadu. Pokus je sestaven ze tří odrůd čiroku, z nichž jedna (Ruzrok) je již na území České republiky běžně pěstovaná, a několika teplotních variant klíčení.

## 2 Cíl práce

Cílem diplomové práce je zhodnotit klíčení rostlin vybraných odrůd čiroku při nízkých teplotách.

U rostlin čiroku ve vývojové fázi 1-2 zhodnotit funkčnost fotosyntetického aparátu na úrovni fotosystému II (PSII) metodou fluorescence chlorofylu *a*.

Hypotézy:

- 1) Za působení nižších teplot dochází u rostlin čiroku (*Sorghum*) ke snížení klíčivosti.
- 2) Stresové podmínky nižší teploty při klíčení se projeví na úrovni PSII i ve vyšších vývojových fázích těchto rostlin.

### 3 Literární rešerše

Literární rešerše je rozdělená na 4 hlavní kapitoly. V první kapitole je představen širok, botanická a biologická charakteristika rodu a jeho druhů, možnosti využití a rozdělení podle dvojího pohledu. V následující kapitole jsou shrnuty nejdůležitější poznatky o stresu způsobeném nízkou teplotou. Poté následuje kapitola o fotosyntéze, kde je velmi stručně popsáno rozdělení a proces fotosyntézy u C3 a C4 typu rostlin. Poslední kapitola je věnována chlorofylové fluorescence. Kapitola je zaměřena na seznámení s diagnostickou metodou prostřednictvím fluorescence chlorofylu *a*.

#### 3.1 Čirok

Čirok je po kukuřici, rýži, pšenici a ječmenu, pátou nejdůležitější obilninou světa (Arendt & Zannini 2013). Představuje nejvýznamnější potravinářskou obilninu aridních oblastí (Pexová Kalinová 2011). Je původem z Afriky. Byl domestikován v Súdánu, Čadu a Etiopii (Elzebroek & Wind 2008). V těchto oblastech je čirokové zrnو základní potravou pro chudobou ohrožené zemědělské populace (Choudhary & Kholová 2017).

Organizace FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) ve svých statistikách uvádí, že světové sklizňové plochy čiroku za rok 2017 dosahovaly 40 674 tis ha. Průměrný výnos plodiny se pohyboval kolem 1,4 t/ha. Největšími producenty zrnového čiroku jsou USA, Nigérie, Mexiko, Etiopie a Indie.

Také v České republice se dříve hojně pěstovalo několik druhů čiroku. V poslední době jsou ale osevňovací plochy čiroků nízké, takže jejich podíl na sortimentu hospodářských plodin je nepatrný (Petříková 2015). Kůst a Záruba (2017) v Situační a výhledové zprávě uvádí, že osevňovací plochy ČR oseté ostatními obilovinami za rok 2017 čítají 6,8 tis. ha. Zatímco v roce 2016 bylo podle Situační a výhledové zprávy ostatními obilovinami pokryto 9,1 tis ha osevňovacích ploch ČR (Kůst a Stehlíková 2016). Ostatní obiloviny tedy vykazují snížení rozsahu pěstování o 2,3 % mezi roky 2016 a 2017. Mezi ostatní obiloviny se kromě čiroku, řadí proso, lesknice (chrstice) kanárská, pohanka a další okrajové obiloviny. ÚKZÚZ (2019) uvádí, že v současné době je ve Státní odrůdové knize České republiky registrováno 7 odrůd čiroku obecného (*Sorghum bicolor* (L.) Moench a 1 odrůda tzv. súdánské trávy (*Sorghum bicolor* (L.) Moench x *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf).

##### 3.1.1 Charakteristika rodu

Rod *Sorghum* Moench - čirok

Podle Dostála (1989) se rod čirok řadí do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Petříková (2015) uvádí, že rod čirok má řadu jednoletých ale i víceletých druhů. Čirok je bylina botanickými vlastnostmi podobná kukuřici (Pexová Kalinová 2011). Má rozsáhlý a hluboký kořenový systém. Stébla trávy jsou dlouhá 0,5–5,0 m (Elzebroek & Wind 2008). Jsou vyplněná dřevinou obsahující sladkou šťávu (Petříková et al. 2006). Někdy mohou být od země rozvětvená (Dostál 1989). Elzebroek a Wind (2008) uvádí, že pro pěstování se využívá čirok typu single-stem (1 stonek). Listy čiroku jsou ploché, široké (Dostál 1989), 30–60 cm dlouhé (Elzebroek & Wind 2008). Květenství lata, má různý tvar, velikost a hustotu (Holubová 2002). Klásky mají

2 kvítky, ze hřbetu jsou smáčklé, vejčité. Květy jsou oboupohlavné, přisedlé, osinkaté. Dolní květ je zakrnělý s průsvitnou pluchou (Dostál 1989). Čiroky jsou cizosprašné, ale dobře se opylují i vlastním pylem (Petříková et al. 2006). Vývoj klásků je bazipetální (Reddy 2017). Dolní pleva za plodem je ztvrdlá, lesklá, horní pleva je člunkovitá. Plucha je dvouzubá, z výkrojku dlouze kolénkatě osinatá. Obilky jsou okoralé (Dostál 1989). Jak uvádí Holubová (2002), obilka je kulovitá nebo vejcovitá. Její barva je bílá, krémová, hnědá až fialová. Zrno může být pluchaté, částečně hladké nebo úplně nahé (Petříková 2015).

#### *Sorghum bicolor* (L.) Moench - čirok obecný

Jsou to rostliny jednoleté, 2–4 m vysoké. Listy mají tuhé, šedozelené, 2–5 cm široké. Na rubu jsou bílé, kýlnaté, na kraji silně drsné. Lata je vejčité podlouhlá, krátká, hustá. Větévky laty jsou vzpřímené. Vřeteno je celé drsné. Klásky jsou vejčité až kulovité, dorůstají 4–6 mm, neopadavé a osinaté. Dolní pleva klásku je tvrdá. Plevy a plucha květu jsou odstálé. Obilka z pluchy vyčnívá. Rostlina kvete od srpna do září. Pochází z Afriky (Dostál 1989).

#### *Sorghum sudanense* (Piper) Stapf in Prain - čirok súdánský

Rostliny jsou jednoleté. Stéblo je dlouhé 150–300 cm. Listy jsou ploché, 2–3 cm široké. Lata je dlouhá 15–30 cm, řídká, vejčitého nebo kuželovitého tvaru. Větévky s hrozny o 2–5 párech klásků. Klásky jsou přisedlé, elipsoidního tvaru. Jsou velké 6–7,5 mm s krátkou osinou. Samčí klásky jsou stopkaté, úzce kopinaté. Rostlina kvete od června do srpna. Původem je z Afriky (Dostál 1989).

#### *Sorghum saccharatum* (L.) Moench - čirok cukrový

Dostál (1989) uvádí, že čirok cukrový je jedna z variant pěstování *Sorghum dochna* (Forks.) Snowden. *Sorghum dochna* (Forsk.) Snowden je jednoletá tráva. Rostlina má 2–4 m dlouhá stébla. Stébla mohou být jednoduchá nebo dole větvená. Listové čepele jsou 2–7 cm široké, na kraji slabě drsné. Lata je přímá, volná, 10–50 cm dlouhá. Klásky jsou obvejčité, velké 4,5–6 mm, elipsoidní, 2x delší než širší. Mají žlutou až červenohnědou barvu. Obilka je v pluše uzavřená. Rostlina kvete v červnu až srpnu. Pochází z tropické Afriky.

#### *Sorghum halepense* (L.) Pers. - čirok halabský

Vytrvalé rostliny s krátce plazivým dlouze výběžkatým oddenkem. Jejich stébla jsou četná, krátce trsnatá a přímá. V průměru mají 3–10 mm. Čiroky jsou vysoké 50–150 cm. Jejich listové čepele jsou hladké, ploché, 10–20 mm široké a na okraji drsné. Lata je kuželovitá, dlouhá 10–25 cm, větévky měří až 15 cm. Klásky jsou přisedlé, 4,5–5,5 mm velké, elipsoidní. Mají nachovou barvu. Plevy jsou bezosinaté. Rostlina kvete od června do července. Původem je ze Středozeší (Dostál 1989).

Podle Peerzada et al. (2017) patří čirok halabský (*Sorghum halepense*) mezi nejhorší plevelné druhy, které jsou rozšířeny ve velké míře. Je velmi rozšířen v teplejších oblastech, kde je přizpůsoben tamním podmínkám. U zemědělských a zahradnických plodin způsobuje ztráty na výnosech 57 až 88 %. Výzkum Nouri et al. (2012) upozorňuje také na alelopatické účinky čiroku. Byl studován vliv čiroku (*Sorghum halepense*) na klíčivost a růst sazenic pšenice. Výsledkem byl prokazatelný alelopatický účinek na klíčení semen a délku vzcházející pšenice.

Čirok je teplomilná plodina. Řadí se mezi rostliny s fotosyntézou typu C4, takže efektivně hospodaří s vláhou (Petříková 2015). Velkou výhodou čiroku je jeho odolnost proti suchu, díky které může být pěstován i v oblastech, které jsou pro kukuřici příliš suché (Elzebroek & Wind 2008). Má koeficient transpirace přibližně 200 litrů na 1 kg sušiny, zatímco transpirační koeficient kukuřice je 300 litrů (Petříková et al. 2006). K odolnosti čiroků proti suchu také přispívá tenká vrstva vosku na listech a stonku, což umožňuje jejich rychlou regeneraci po prvních srážkách následujících po období sucha (Petříková 2015). Je odolnější k suchu a méně náročný na půdu než kukuřice, proto ji může na extrémních stanovištích nahradit (Pexová Kalinová 2011). Ve studii do Nascimento et al. (2014) byl na čirok s nízkou tolerancí vůči salinitě aplikovaný přípravek, obsahující bakterie *Azotobacter chroococcum*, které podporují růst rostlin. Výsledkem bylo objevení specifických vztahů mezi použitými bakteriemi, růstem rostliny a sníženou citlivostí na salinitu. Čirok je adaptován také na širokou škálu půd, teplot a vlhkostních podmínek půdy (Elzebroek & Wind 2008). Protože je čirok pevně upevněn kořeny v půdě, obecně není náchylný k poléhání ani při silném větru (Petříková 2015).

Vzhledem k tomu, že je čirok relativně více přizpůsobivý k různým abiotickým omezením (teplo, sucho, zasolení, nízká úrodnost půdy) oproti jiným obilninám, je většina ploch, na kterých je pěstován, posunuta na okraje pozemků, kde jsou minimální vstupy (Choudhary & Kholová 2017). Reddy (2017) shrnuje, že plodina se pěstuje v drsných podmínkách, kde jiné plodiny nedokážou růst.

Rooney (2004) uvádí, že čirok má velkou genetickou rozmanitost (s více než 40 000 druhů). V závislosti na oblasti produkce, typu čiroku a účelu pěstování se velmi liší. Primárním cílem pěstitelů čiroku na celém světě jsou výnosy, adaptace a kvalita. Kromě těchto faktorů, je také důležité snížení ztrát vlivem stresu. Z abiotických stresů se pěstitelé nejčastěji zaměřují na stres ze sucha a působení nízké teploty. Podobně vyjadřuje Reddy (2017) že, nejvyšší prioritou všech šlechtitelských programů čiroku na celém světě je i nadále šlechtění na vysoký a stabilní výnos zrna, se zlepšeným indexem sklizně. Šlechtění vyžaduje využití dostupnosti zárodečné plasmy, která poskytuje obrovskou genetickou variabilitu výnosových komponentů a adaptačních rysů, z nichž byl zatím využit jen zlomek. Rooney (2004) dodává, že průměrný výnos produkce čiroku je obecně nízký, protože plodiny jsou často pěstovány v prostředí, kde produkci běžně omezují biotické a abiotické stresy.

### 3.1.2 Využití čiroku

Čirok je dobrý zdroj živin a bioaktivních látek pro lidskou stravu (de Moraes Cardoso et al. 2017). Pexová Kalinová (2011) uvádí, že zrno čiroku zrnového je dobré pro potravinářství. Obvykle se využívá k mletí mouky. Z mouky se dělá řídká nebo hustá kaše a nekvašený chléb (Elzebroek & Wind 2008). Zrno je vhodné pro pacienty s bezlepkovou dietou (Pexová Kalinová 2011), protože bílkoviny neobsahují žádný lepek (Elzebroek & Wind 2008). Podle studie Kaplan et al. (2018) obsahují zrna čiroku také vysoký obsah mastných kyselin. Jsou bohaté na kyseliny linolovou, olejovou a palmitovou, méně pak na kyselinu stearovou a linolenovou.

Celkový obsah oleje v semenech se pohybuje v rozmezí 2,32 až 5,74 % v závislosti na genotypu.

Stonky, které mají šťavnatou dřev, se dají využít k výrobě lihu nebo bioplynu (Petříková et al. 2006). Vzhledem k vysokému obsahu škrobu (okolo 70 %) má čirok vysokou energetickou hodnotu. Čirok je tedy vhodný i pro škrobárenský a lihovarnický průmysl (Pexová Kalinová 2011). Suché stonky se používají také pro pokrývačství a na stavbu plotů (Elzebroek & Wind 2008).

Čirok je též široce využíván při vaření piva, zejména v Africe. Čirokové pivo je cenný potravinový doplněk, protože obsahuje vysoké množství vitamínu B. V Číně se též používá pro výrobu čirokového vína (Elzebroek & Wind 2008).

Neméně důležité je využití zrna jako jaderného krmiva pro skot a drůbež (Pexová Kalinová 2011). Před zkrmením dobytka se ale zrno čiroku musí zpracovat, protože otruby z čiroku jsou těžko stravitelné. Obroušení zrna je nejjednodušší a nejméně nákladná metoda přípravy zrna čiroku pro dobytek. Zrnové čiroky obsahují v průměru 8–15 % bílkovin, 2–5 % tuku, 68–74 % sacharidů, 1–3 % vlákniny a 1,5–2 % minerálních látek (Holubová 2002).

Čirok se také pěstuje na píci pro přímé zkrmení přežvýkavců (Elzebroek & Wind 2008). Getachew et al. (2016) uvádí, že čiroková píce má s kukuřicí srovnatelný výnos. Proto ji může nahradit v oblastech, kde je omezený přísun vody.

Stonky lze též silážovat na krmivo pro zvířata (Petříková et al. 2006). Podle Reddy (2017) se použití krmného čiroku liší, v Indii se běžně používá jako zelené krmivo, zatímco ve Spojených státech je primárně využíván na siláž a v omezeném rozsahu jako pastva, případně seno, pro hospodářská zvířata. Siláž vyrobená z čiroku dosahuje nižší kvality než siláž z kukuřice.

Kultivary známé jako 'broomcorn' mají květenství s množstvím krátkých článků, ale s dlouhými vláknitými větévkami, používají se pro výrobu košťat (Elzebroek & Wind 2008)

Podle Pexové Kalinové (2011) se čirok súdánský, cukrový a jeho kříženci dají pěstovat i jako energetická plodina pro spalování biomasy. Petříková et al. (2006) uvádí, že čirok súdánský je nejvhodnější pro případné energetické využití. Naopak Petříková (2015) uvádí, že z dosavadních výsledků se nejlépe osvědčil čirok cukrový, odrůda Sugar Graze. Kvalitní čiroková siláž se v poslední době začíná používat rovněž pro získání bioplynu. Lze spalovat i suché stonky (Petříková et al. 2006). Brazilský výzkum, provedený s cílem zhodnotit produkci a kvalitu cukrového čiroku k výrobě etanolu, prokázal, že čirok může být v semiaridních oblastech rentabilní alternativou cukrové třtiny mimo její sezónu (da Silva et al. 2019).

V poslední době je zkoumána také možnost využití čiroku jako rostliny k fytořemediaci kontaminované půdy. Z výsledků studie Jia et al. (2016) vychází závěr, že čirok dokáže zadržet kadmium ve svých kořenech, aniž by byl negativně narušen růst rostliny. Čirok má také potenciální extrakční schopnost na půdách znečištěných stronciem. Obsahy stroncia v kořenech, stoncích a listech čiroku se při pozorování lineárně zvyšovaly se zvýšenou hladinou stroncia v půdě (Wang et al. 2017). Akumulace těžkých kovů, absorpční koeficient a jeho změny v závislosti na koncentraci v životním prostředí, se u čiroku pro různé prvky liší (Shafiei Darabi & Almodares 2018).

### 3.1.3 Rozdělení

Podle Holubové (2002) se systematikou tohoto rodu zabývala řada autorů, ale dosud není uspokojivě vyřešena. Autoři Petříková et al. (2006) a Petříková (2015) se shodují, že podle **hlavních směrů využití** se dá čirok rozdělit do čtyř skupin, což odpovídá čtyřem různým varietám, které se pro tyto účely pěstují.

#### 3.1.3.1 Čirok obecný nebo též zrnový (*Sorghum vulgare* var. *eusorghum*)

Je významný hlavně v aridních oblastech (Petříková 2015). Většinou jde o formy s nižším vzrůstem (Petříková et al. 2006). Petříková (2015) uvádí, že se pěstuje převážně pro zrno využívané jako potravinářská obilovina i jako jaderné krmivo pro skot a drůbež (viz Obrázek 1). Čirok je významnou složkou potravy zvířat v Americe, Austrálii a Číně (Elzebroek & Wind 2008). Jeho obilky mají značný obsah bílkovin a škrobu (Holubová 2002). Zrno má vysokou nutriční hodnotu, obsahem výživných látek se podobá rýži. Zrno čiroku lze efektivně využívat v potravinářství i pro bezlepkovou dietu (Petříková 2015). Jako negativní se uvádí obsah taninů a dalších antinutričních látek, které mohou nepříznivě ovlivňovat stravitelnost, zejména u odrůd s barevnými (hnědými) obilkami (Pexová Kalinová 2011).



Obr. 1: Čirok obecný – odrůda Ruzrok (převzato z Hermuth et al. 2018)

#### 3.1.3.2 Čirok technický též metlový (*Sorghum vulgare* var. *technicum*)

Má silně vyvinutou pružnou latu, která je surovinou pro výrobu košťat a kartáčů (Pexová Kalinová 2011). Zrno, je vedlejším produktem, které se většinou využívá ke krmným účelům (Petříková 2015). V současné době, se nově zaměřuje pozornost na jeho schopnost odolání stresu vůči suchu. Výzkumem možností využití technického čiroku pro další šlechtění a křížení se zabývala například studie Marinov-Serafimov et al. (2018).

### 3.1.3.3 Čirok cukrový (*Sorghum vulgare* var. *saccharatum*)

Má vysoký obsah sacharidů v dřeni stébla (Holubová 2002). Petříková et al. (2006) uvádí, že čirok má šťavnatou dřev i v biologické zralosti zrna. Používá se jako krmná, zejména silážní rostlina. Někdy se lisuje ze stébel šťáva, ze které se vyrábí líh, sirup apod. Čirok cukrový se začíná pěstovat také pro energetické účely, výrobu etanolu a bioplynu (Petříková 2015). Jednou z hlavních výhod cukrového čiroku při výrobě bioethanolu je, že jeho šťáva může být přímým zdrojem vody pro jednoduché cukry (mono a disacharidy), které pak mohou být přímo fermentovány na alkohol (Sillanpää & Ncibi 2017).

### 3.1.3.4 Čirok súdánský též súdánská tráva (*Sorghum vulgare* var. *sudanense*)

Je kvalitní píce (Holubová 2002). Tato skupina má tenká stébla, bohaté olistění a vytváří velké množství hmoty (Petříková et al. 2006). Hermuth et al. (2012) uvádí, že v současné době existují tzv. BMR formy čiroku. Jedná se o odrůdy se zvýšenou stravitelností. Odrůdy mají snížený obsah ligninu o 40 až 60 %. Rostliny čiroku súdánského se většinou vyznačují silným odnožováním. Mladé rostliny tohoto čiroku, ale obsahují kyselinu kyanovodíkovou (HCN), která může být nebezpečná pro hospodářská zvířata. Proto se doporučuje zkrmovat čirok starší a nejlépe silážovaný (Petříková 2015). Podle Petříkové et al. (2006) je čirok súdánský pro případné energetické využití nejvhodnější. Podle Reddy (2017) může být súdánská tráva jako krmná plodina určena pro vícenásobné sklizně, použita na seno, siláž, pastvu nebo jako zelená řezanka.

Autoři výzkumu Rizzardí a Wandscheer (2014) se zabývali porovnáním konkurenceschopnosti čiroku súdánského a kalužnice indické (*Eleusine indica*) při pěstování sóji a kukuřice. Výzkum potvrzuje, že čirok má lepší schopnost konkurence oproti kalužnici. Zplanělá forma tohoto čiroku je v Severní Americe považovaná za relativně běžný plevel (Schmidt et al. 2018).

Jiné rozdělení upřednostňují autoři Dahlberg (2000) a Elzebroek a Wind (2008). Ti rozdělují čirok podle primárního genofondu *Sorghum bicolor* (L.) Moench do pěti hlavních odrůd - bicolor, guinea, caudatum, kafir a durra (viz Obrázek 2); a deseti mezidruhů (hybridů), vzniklých kombinací základních druhů:

#### 1. BICOLOR (neboli Bicolor sorghum)

Odrůda Bicolor je považována za nejprimitivnější čirok. Druh je charakteristický otevřenými latami střední velikosti. Plevy jsou silné a kožovité. Zrna jsou drobná, eliptická, téměř kulovitá, trvale spojená s latou. Každé zrno je uzavřeno nebo téměř uzavřeno přiléhající plevou. Stopky jsou krátké. Rostliny čiroku Bicolor jsou střední výšky, poměrně málo ohebné, s vysokým sklonem k odnožování (Dahlberg 2000). Rostou napříč Afrikou, jsou rozšířené i v Asii (Elzebroek & Wind 2008).



## 2. GUINEA (též Guinea sorghum)

Je charakterizován dlouhou, volnou, lysou a převyšující latou. Přisedlé klásky se při zrání otevírají, čímž ukazují zrno. Zrna jsou malá až střední, téměř vejčitá někdy též zploštělá. Reddy (2017) dodává, že zrna mají dobré potravinové vlastnosti a schopnost přizpůsobit se podmínkám sucha v Africe. Rostlina je středně vysokého vzrůstu s nízkým sklonem k pružnosti (Dahlberg 2000). Vyskytuje se v západní Africe (Elzebroek & Wind 2008).

## 3. CAUDATUM (též Caudatum sorghum)

Je jedna z nejdůležitějších zemědělských odrůd, poskytující geny pro vysoký výnos a vynikající kvalitu semen. Stala se jedním z nejdůležitějších zdrojů genofondu v moderních šlechtitelských programech po celém světě (Dahlberg 2000). Mimo to má výborné vlastnosti pro získání mikrokrytalické celulózy, která se získává z vláken stonku. Mikrokrytalická celulóza je běžně využívána ve farmaceutickém tabletování (Ohwoavworhua & Adedokun 2010).

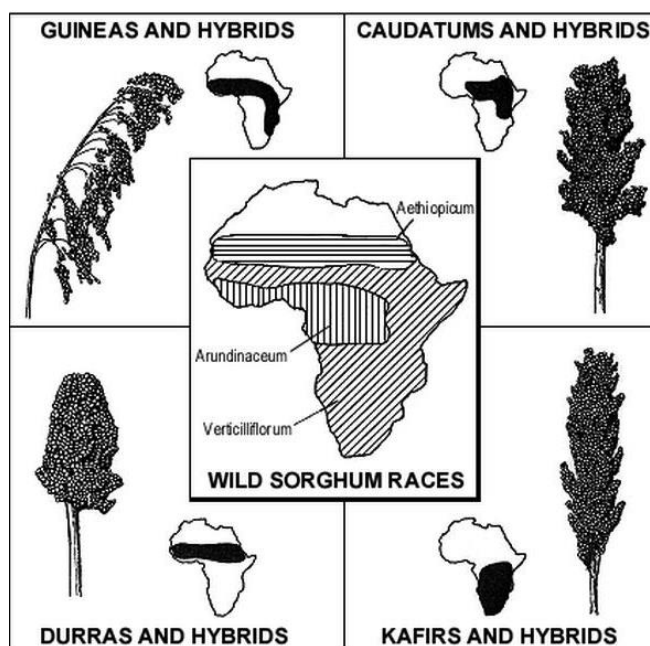
Má latu různých tvarů (Elzebroek & Wind 2008). Plevy jsou kožovité (Dahlberg 2000), obvykle mnohem kratší než zrno. Zrno je asymetrické z jedné strany ploché, z druhé strany vypouklé (Elzebroek & Wind 2008). Rostliny jsou středně vysoké, obvykle vysoce ohebné (Dahlberg, 2000). Tento čirok je velmi rozšířen v Čadu, Súdánu, severovýchodní Nigérii a Ugandě (Elzebroek & Wind 2008).

## 4. KAFIR (neboli Kafir sorghum)

Rostliny jsou nízké a často mají válcovitou a relativně kompaktní latu (Elzebroek & Wind 2008), která je vzpřímená. Plevy jsou mírně kožovité a mnohem kratší než zrno. Zrno je široce eliptické, někdy stlačené nebo zploštělé (Dahlberg 2000), pevně uzavřeno v obvykle kratších plevách (Elzebroek & Wind 2008). Kafir má nejnižší obsah bílkovin a nejvyšší obsah škrobu ze všech uvedených skupin odrůd (Rhodes et al. 2017). Rostliny jsou střední výšky a vysoce ohebné (Dahlberg 2000). Nejvíce se pěstuje v jižní Africe (Elzebroek & Wind 2008), Indii a USA (Rhodes et al. 2017)

## 5. DURRA (též Durra sorghum)

Má velmi kompaktní latu se vzpřímeným, někdy zakřiveným tvarem (Elzebroek & Wind 2008). Zrna jsou střední až velká, oboustranně vypouklá (Dahlberg 2000), pevně uzavřená v plevách (Elzebroek & Wind 2008). Studie Rhodes et al. (2017) zaměřená na složení zrna čiroku zjistila, že Durra má nejvyšší obsah bílkovin a tuků, a nejnižší obsah škrobu. Rostliny jsou střední výšky a dobré kvality (Dahlberg 2000). Roste hlavně ve východní Africe, na středním východě a v Indii (Elzebroek & Wind 2008).



Obr. 2: Rozmístění divokých a kulturních odrůd *Sorghum bicolor* L. Moench v Africe (převzato z Muraya 2015)

Elzebroek a Wind (2008) publikují, že většinou se pěstují přechodné variety, které jsou kombinací různých charakteristik odvozených z původních variet. Čirok jako rod je velmi různorodý, na jeho postupný vývoj mělo vliv klima, zeměpisná poloha, ve které se vyvíjel, ale také selekční tlak lidí a životního prostředí. Proto v roce 1963 proběhl první pokus o prozkoumání druhu na základě genů zárodečné plazmy. Cílem bylo sjednotit znaky původních druhů. Na toto úsilí navázal v roce 2009 program Reinstated Sorghum Conversion (RSC). Ten by měl, na základě zpětného křížení genů zárodečné plazmy vytvořit data, která by měla sloužit jako nový zdroj genetické rozmanitosti pro šlechtitelské programy čiroku (Klein et al. 2015).

## 3.2 Nízká teplota

Vzhledem v přisedlému způsobu života, rostliny nejsou, na rozdíl od zvířat, schopné uniknout mnoha abiotickým a biotickým faktorům, které narušují jejich optimální podmínky růstu a vývoje (Baxter 2014). V přirozených i uměle vytvořených ekosystémech, na rostliny nepůsobí jednotlivé stresory odděleně, ale vždy v kombinaci, proto v porovnání s živočišnou stresovou fyziologií je stresová fyziologie rostlin komplikovanější (Hnilička & Hniličková 2016). Hlavními determinanty růstu a vývoje rostlin jsou především ty faktory, které ovlivňují dostupnost vody a teplotu prostředí (Baxter 2014). Podle Xia et al. (2018) se rychlost růstu rostlin při různých teplotách prokazatelně liší. Komplikovanost je také dána tím, že stresorem mohou být ohroženy pouze některé orgány, a nikoliv celá rostlina (Hnilička & Hniličková 2016). Například Bláha a Hnilička (2006) uvádí, že kořeny jsou nejcitlivějším orgánem rostliny, který svými morfologickými a fyziologickými vlastnostmi reaguje podstatně citlivěji na vnější prostředí nežli nadzemní části rostlin.

Na rostliny nepůsobí jen teploty v optimálních hranicích, ale také teploty extrémní. Rostliny mohou být poškozovány, jak teplotami vysokými, tak i teplotami blízkými 0 °C či pod bodem mrazu, kdy hovoříme o chladu nebo mrazu (Hnilička et al. 2003). Filippou et al. (2013) doplňuje, že nízká teplota je považována za jeden z hlavních abiotických stresů, které negativně ovlivňují vegetativní i reprodukční růst rostlin. Baxter (2014) upozorňuje, že nízké teploty mohou být přímou příčinou poškození rostlinných buněk.

Tolerance nízkých teplot se výrazně liší u různých druhů rostlin. Také mechanismy, které v rostlinách za těchto podmínek působí, se mohou lišit rostlinným druhem (Raju et al. 2018). Hnilička et al. (2003) rozděluje rostliny na základě adaptačních mechanismů k nízké teplotě, při určení letální teploty označované jako LT50 (teplota, při níž zahyne 50 % sledovaných rostlin) do několika skupin:

- Rostliny citlivé na mráz – jedná se o rostlinné druhy, snášející nízké teploty, ale pouze do doby, nežli se začne v buňkách tvořit led (Hnilička et al. 2003).
- Rostliny citlivé na chlad, mohou být charakterizovány různě.
  - Rostliny, které jsou poškozovány i teplotami nad bodem mrazu (Hnilička et al. 2003).
  - Baxter (2014) je popisuje jako druhy rostlin, které jsou přirozené v oblastech s benigním podnebím (obvykle s nízkou teplotní amplitudou), které trpí nevratným poškozením při teplotách několik stupňů nad bodem mrazu (typicky mezi 0-10 °C, někdy i při teplotách vyšších).
  - Rostliny, pro které jsou chladné teploty příliš nízké pro normální růst, ale ne tak nízké, aby se tvořil led (Taiz & Zeiger 2006).

Na chlad citlivěji reagují rostliny z tropických a subtropických zemí nebo z teplejších oblastí mírného pásma (Hnilička et al. 2003). Lambers et al. (2008) uvádí, že mnoho tropických a subtropických rostlin hůře roste nebo jsou přímo poškozovány teplotou mezi 10 a 20 °C. Mezi plodiny citlivé na chlad se řadí například kukuřice, fazol, rýže, rajče, okurka, sladké brambory a bavlník (Taiz & Zeiger 2006). Jedním z klíčových enzymů C4 rostlin je u *Zea mays* (kukuřice) pyruvát P<sub>i</sub>-dikináza, ten při nízké teplotě snadno ztrácí svou aktivitu, čímž klesá schopnost listů

fotosyntetizovat. To je podstatou citlivosti vůči chladu pro většinu C4 rostlin (Lambers et al. 2008). Taiz a Zeiger (2006) vysvětlují, že pokud rostliny rostou při relativně vyšších teplotách (25–35 °C), pak při teplotách 10–15 °C již reagují jako by se ochladilo a nastává tak chladové poškození. Lambers et al. (2008) uvádí, že tento typ poškození se obecně označuje jako „chilling injury“ (poškození chladem).

Podle Larcher (2003) můžeme mezi rostlinami citlivými na chlad rozlišovat jiné dvě skupiny. A to druhy zcela citlivé, u kterých je každá část rostliny citlivá na poškození a druhy, které jsou chladem poškozené pouze částečně.

### 3.2.1 Faktory ovlivňující působení stresu

#### 3.2.1.1 Doba a délka trvání

Doba, po kterou chlad působí, je různě dlouhá a reakce na stres se proto nemusí projevit okamžitě po snížení teploty pod určitou kritickou hranici (Hnilička et al. 2003). Teplo a chlad, v závislosti na intenzitě a délce trvání, poškozují metabolickou aktivitu, růst a životaschopnost rostlin a tím stanovují limity rozšíření druhů (Larcher 2003).

#### 3.2.1.2 Stupeň aklimace

Baxter (2014) uvádí, že stupeň tolerance chladu se v mnoha případech může zvýšit procesem postupné aklimace na nízkou teplotu, ne však na mráz. Aklimací rozumíme indukované změny v rámci fenotypové plasticity určitého genotypu (Gloser & Prášil 1998). Pokud se tolerance zvyšuje v důsledku předchozího vystavení stresu, pak se o rostlině říká, že se aklimovala. Poškození chladem může být minimalizováno, pokud bude expozice pomalá a postupná. Náhlé vystavení teplotám blížícím se 0 °C, se nazývají chladový šok, ten značně zvýší šance na poranění (Taiz & Zieger 2006).

#### 3.2.1.3 Citlivost rostliny

Larcher (2003) uvádí, že pozoruhodné rozdíly existují také v citlivosti mezi orgány a pletivý té samé rostliny. Hnilička et al. (2003) doplňuje, že jednotlivé rostlinné orgány jsou různě tolerantní vůči teplotním stresorům. Obecně lze říci, že generativní orgány jsou extrémními teplotami více poškozovány než orgány vegetativní. Kořeny a podzemní části stonku jsou citlivější na oba teplotní extrémy.

Také jednotlivá stádia životního cyklu rostliny mohou být více citlivé chladu než jiná (Larcher 2003). Například semena a mladé sazenice bavlníku (*Gossypium herbaceum*) a sóji (*Glycine max*) jsou mnohem více citlivé na chlad než poté starší rostliny. U rýže (*Oryza sativa*) a čiroku (*Sorghum bicolor*) jsou nejvíce citlivé procesy, které probíhají ve fázi těsně před iniciací květů. Nízká teplota může narušit formaci pylu mateřských buněk a tím způsobit sterilitu. Nízká teplota může také velmi rychle poškodit zrání plodů tropických a subtropických plodin (Lambers et al. 2008). Hnilička et al. (2003) zdůrazňuje, že dormantní semena, tedy semena v klidovém stavu, jsou odolná, ale již klíčící semena a vzcházející rostliny tuto vlastnost ztrácejí.

### 3.2.2 Fyziologické příčiny chladového stresu

Od devatenáctého století se předpokládá, že teplota ovlivňuje rychlost biologických reakcí podle termodynamických principů, které chemické reakce řídí obecně (Baxter 2014). Při klesající teplotě, klesá i rychlost chemických reakcí. Ve výsledku se rovnovážné reakce posouvají směrem k uvolňování energie (Le Chatelierův princip). Za chladu je metabolická energie méně dostupná a příjem vody a živin je výrazně omezen (Larcher 2003).

Reakce různých druhů na stres z nízké teploty zahrnují změny typů a desaturaci hladin membránových lipidů. Konkrétní lipid, který je stresem přímo ovlivněn, se může lišit podle druhu (Raju et al. 2018). Lambers et al. (2008) ve své publikaci shrnul fyziologické příčiny poškození, které mohou nastat v rostlině při nízké teplotě do následujících faktorů:

- Snížení propustnosti membrán
- Změny v aktivitě enzymů a procesů vázaných na membránu, jako je transport elektronů v chloroplastech
- Ztráta aktivity enzymů citlivých na nízkou teplotu

Duca (2015) uvádí, že hlavní příčinou škodlivého účinku nízkých teplot na teplomilné rostliny je narušení funkční aktivity membrán v důsledku přechodu nasycených mastných kyselin z kapalného krystalického stavu do stavu gelu. Odolnost proti chladu může souviset s vlastnostmi membrán, které jsou ovlivněny jejím složením. Ve složení membrán mohou hrát důležitou roli především proteiny a lipidy (Lambers et al. 2008). Hnilička et al. (2003) doplňuje, že u rostlin citlivých na chlad jsou při déle trvajícím chladu poškozeny především vazby lipidů na proteiny v buněčných membránách a dochází ke změnám fyzikálních a chemických vlastností membrány. Postupně se vyčerpávají energetické zdroje buňky a ta hyne. Častější, delší a chladnější periody nízkých teplot mají pro rostliny závažnější následky (Larcher 2003).

Důležitým příkladem snížené intenzity aktivity enzymů je fotosyntéza. Při ochlazení rostlin jsou světelné fáze fotosyntézy relativně stabilní, zatímco u enzymů temnostní fáze dojde ke snížení jejich aktivity. To vede k inhibici fotosystému I (PSI) a někdy i fotosystému II (PSII) (Zhang & Scheller 2004).

#### 3.2.2.1 Souvislost mezi nízkou teplotou a suchem

Teplomilné rostliny, po vystavení nízkým teplotám, mění své procesy zásobování vodou, což způsobuje ztrátu turgoru buněk. To znamená, že při nízké kladné teplotě (nad 0 °C) je narušen vodní režim rostlin (Duca 2015). Nedostatek vody a suboptimální teplota vyvolávají, ve kterémkoli růstovém stádiu plodiny, negativní účinky na růst a vývoj. Tyto škodlivé účinky jsou závislé na rozsahu a délce trvání stresu a růstové fázi rostliny (Hussain et al. 2018).

Druhy, které jsou obecně citlivější k chladu, mohou ukazovat různé kombinace příznaků (Taiz & Zeiger 2006). Ty jsou v rostlinách vyvolány jak na morfologické, fyziologické, biochemické tak i molekulární úrovni (Hussain et al. 2018).

### 3.2.2.2 Změny vyvolané na morfologické úrovni

#### 3.2.2.2.1 Semeno

Některé plodiny jsou extrémně citlivé na chlad a sucho zejména během klíčení a raných fází vývoje semenáčků (Hussain et al. 2018). Bylo zjištěno, že vznik a vývoj kořínků u semene jsou klíčovými faktory determinující vývoj a přežití chladového stresu (Bekele et al. 2014). Hussain et al. (2018) popisuje, že každé semeno vyžaduje pro klíčení optimální teplotu a půdní vlhkost. Nomura et al. (2001) upozorňuje, že růst vzcházejících rostlin je také závislý na tom, ve které fázi vývoje, byla rostlina chladem ovlivněna.

#### 3.2.2.2.2 Kořen

Chladový stres vyvolává svou termofilní povahou pokles vodní hladiny a sníženou absorpci vody kořenem (Hussain et al. 2018). Jak uvádí Haberle et al. (2008), nízká teplota půdy redukuje růst a příjmovou aktivitu kořenů, ale značné rozdíly existují i u jednotlivých živin a případně jejich forem. Optimální teplota příjmu většiny prvků se pohybuje mezi 15 až 20 °C. Ale závislost příjmu různých forem dusíku na teplotě je komplikovanější.

#### 3.2.2.2.3 List

Podle Baxter (2014) se příznaky poškození chladem projevují sníženou rychlostí růstu, chlorózou listů, ztrátou turgoru, a pokud jsou poškozeny meristémy, tak i odumřením. U listů, které byly poškozeny chladovým působením, byla zjištěna inhibice fotosyntézy (Taiz & Zeiger 2006). Jak uvádí Hussain et al. (2018), stres ze sucha snižuje fotosyntézu omezením listové plochy, snížená je také rychlost fotosyntézy na jednotku plochy listu. Dalšími příznaky pak mohou být pomalejší transport sacharidů, nižší rychlost respirace, inhibice syntézy proteinů a zvýšená degradace existujících proteinů. Všechny tyto negativní odpovědi jsou výsledkem ztráty funkčnosti membrán (Taiz & Zeiger 2006).

### 3.2.2.3 Fyziologické a biochemické reakce vyvolané chladem

#### 3.2.2.3.1 Fotosyntéza

Sucho a chlad mění běžné hodnoty fotosyntézy a ostatní vlastnosti výměny plynů u plodin (Hussain et al. 2018). Z výsledků, které uvádí Hnilička et al. (2018) vyplývá, že u juvenilních rostlin máku setého (*Papaver somniferum* L.) vlivem působení nízké teploty docházelo ke snížení výměny plynů. U některých testovaných odrůd docházelo také ke snížení transpirace. Jedním z fyziologických procesů, které jsou v rostlinách výrazně ovlivněny, je fotosyntéza. Snížená schopnost rostliny fotosyntetizovat, je přímým důsledkem sníženého výnosu (Singh & Thacur 2018). Během práce na cukrové třtině bylo zjištěno, že stres ze sucha samotný nebo v kombinaci s chladovým stresem, výrazně ovlivnil výměnu plynů v listech, fotochemickou aktivitu, asimilaci CO<sub>2</sub>, generování energetického tlaku při elektronové rychlosti přenosu na úrovni PSII a transpiraci (Hussain et al. 2018). Hnilička et al. (2003) vysvětluje, že nízké teploty snižují fotosyntézu a transpiraci, protože průduchy se za chladu otevírají pomalu a pouze částečně. Jestliže teplota poklesne do rozmezí teplot 0 až -5 °C, průduchy se u většiny druhů uzavřou úplně. Opětovné obnovení fotosyntézy a transpirace

v plné výši je pomalé a postupné. Chlad navíc zpomaluje rychlost fixace CO<sub>2</sub> a omezuje dostupnost NADP<sup>+</sup>, který přijímá elektrony z transportního řetězce elektronů (Wise 1995).

#### 3.2.2.3.2 Dýchání

Při působení nízkých teplot rostlina zrychluje dýchání, jako důsledek působení stresoru. Dýcháním se rostlina snaží kompenzovat poškození a přizpůsobit se novým podmínkám. Dochází však k porušení rovnováhy mezi jednotlivými metabolickými pochody a v důsledku toho k odumírání buněk (Hnilička et al. 2003). To dokládá také studie Ikkonen et al. (2018) prováděná na teplomilných zeleninách. Výsledky této studie ukázaly, že krátkodobé denní poklesy teploty mohou zvýšit poměr respirace (R) a fotosyntetické asimilace CO<sub>2</sub> (A). Poměr R/A může být důležitým ukazatelem charakterizujícím adaptivní potenciál rostlinných druhů citlivých na krátkodobé působení chladu.

#### 3.2.2.3.3 Fotoinhibice a fotooxidace

Ochlazení také často vede k fotoinhibici a fotooxidaci. K fotooxidaci dochází protože, biofyzikální reakce fotosyntézy jsou mnohem méně citlivé na teplotu než reakce biochemické. Chlorofyl absorbuje světlo i při nižších teplotách, ale elektrony nemohou být přenášeny dostatečně vysokou rychlostí na normální akceptory, tak aby se rostlina vyhnula fotoinhibici (snížení účinnosti). Při absenci takových mechanismů se elektrony přenášejí nespecifickým způsobem na různé komponenty. Jung a Steffen (1997) uvádí, že chladový stres snižuje fotosyntetickou účinnost a zvyšuje fotoinhibiční proces v důsledku nadměrné excitace tylakoidních membrán a následného poškození fotosyntetické funkce. Výsledky studie autorů Zegada-Lizarazu et al. (2016) prováděné srovnáním dvou odlišných hybridů čiroku prokázaly, že tolerantnější odrůda vůči chladu, měla efektivnější mechanismus fotochemické regulace. To znamená, že zvládala při chladovém stresu lépe rozdělovat světelnou energii mezi PSII a alternativní energetické akceptory. Naopak méně tolerantní odrůda vykazovala rychlou opětovnou syntézu chlorofylových pigmentů *a* a *b*, což vedlo k nadprodukci a postupnému uzavírání reakčních center PSII.

Baxter (2014) doplňuje, že chloroplastové membrány jsou obzvláště citlivé na poškození oxidačním stresem, způsobeným tvorbou nadměrného množství ROS (reaktivní formy kyslíku) v těchto membránách. ROS může způsobit rozsáhlou peroxidaci a deesterifikaci membránových lipidů, stejně tak vést k denaturaci proteinů a mutaci nukleových kyselin. Dodává, že stresové podmínky prostředí (včetně nízkých teplot) zvyšují produkci ROS jako toxického vedlejšího produktu. ROS potom zase vede k oxidačnímu stresu. Autoři Esim a Atici (2016) ve své práci zkoumali korelaci mezi endogenními hladinami některých signálních sloučenin (oxid dusnatý, salicylová kyselina, ABA) a antioxidační systém při reakci na stres chladu u sazenic kukuřice. Výsledky ukázaly, že chladový stres způsobil oxidační poškození a změny signálních molekul u testovaných signálních sloučenin.

#### 3.2.2.4 Reakce na stres na molekulární úrovni

Stavridou et al. (2018) se domnívá, že genetická manipulace agronomicky významných plodin pomocí specifických genů, které přinášejí vysokou toleranci k abiotickým stresům, může poskytnout alternativní zdroj pro pěstování těchto plodin na zemědělsky nevýznamných půdách

a překonat tak rostoucí potřebu po potravinách. Shah et al. (2017) ve své studii upozorňují na AtCBF3 z rostliny *Arabidopsis thaliana* (huseníček), který hraje roli v různých buněčných aktivitách modulací více genů indukovaných při stresu chladu. Vytvořené transgenní rostliny rajčat s nadměrnou expresí *Arabidopsis* CBF3 vykazovaly zvýšenou toleranci vůči chladu. Dále uvádí Stavridou et al. (2018), že různé experimentální přístupy a vědecké poznatky naznačují, že GTS (glutathiontransferáza) významně přispívá k aklimaci rostlin a k toleranci environmentálních stresů jako je salinita, teplo, sucho a nízká teplota.

Aklimační změny za nízkých teplot jsou spojeny s hromaděním osmoticky aktivních látek, s tvorbou stresových proteinů a se změnami chemického složení lipidové vrstvy membrány. Zvyšuje se zastoupení nenasycených mastných kyselin, které vede ke snížení kritické teploty přechodu lipidů do gelu. Změny jsou řízeny i některými fytohormony, především kyselinou abscisovou (Hnilička et al. 2003). Singh a Thacur (2018) uvádějí, že jedna z nejčasnějších reakcí rostliny na většinu abiotických stresů jako je sucho, vysoká teplota, chlad nebo salinita, je změna hladiny kyseliny abscisové (ABA). Ramakrishna a Ravishankar (2013) popisují, že endogenní fytohormony včetně ABA, stejně jako polyaminy a jejich biosyntetické nebo responzivní geny, byly modulovány tak, aby umožnily zvýšenou adaptaci rostlin na stres z ochlazení. Jedna z nejúspěšnějších strategií, které rostliny vyvinuly, aby se přizpůsobily chladovému stresu, je vyvolat expresi některých genů regulovaných chladem. Bylo prokázáno, že nízká teplota reguluje expresi mnoha genů, stejně jako úroveň některých proteinů a metabolitů (Filippou et al. 2013). Podle Lambers et al. (2008), je aklimace na nízkou teplotu u kukuřice (*Zea mays*) rozšířena o expozici k nízkému potenciálu půdní vody. Oba stresy mohou zvyšovat úroveň fytohormonu ABA, který se pravděpodobně podílí na aklimaci nízkého potenciálu půdní vody i nízké teploty. Také studie Yu et al. (2019) testující rostliny rajčete s inhibovanou biosyntézou etylénu, prokázala významnou úlohu etylénu při regulaci chladové tolerance rostlin. Takto upravené rostliny byly chladovým stresem prokazatelně více poškozeny oproti rostlinám, které se chladu tvorbou etylénu takto přirozeně brání.

Rostliny si vytvořily v průběhu evoluce i další ochranu vůči nízkým teplotám a tou je tvorba specifických proteinů. Proteiny indukované nízkou teplotou mají mimořádně významnou úlohu při zvyšování odolnosti vůči chladu a mrazu. Většinou jsou to proteiny s vyšší molekulovou hmotností. Časté jsou glykoproteiny a několik typů silně hydrofobních proteinů s velmi účinnou schopností chránit některé enzymy před denaturací (Hnilička et al. 2003). Ve studii Ma et al. (2018) byla zkoumána funkce genu kódujícího protein regulující chlad (SICOR413IM1), který se přirozeně nachází u rajčat, při chladovém stresu. Nadměrná exprese SICOR413IM1 zmírnila chladové poškození membrán chloroplastů, čímž zvýšila toleranci vůči stresu chladu. Naopak potlačení tohoto genu citlivost vůči chladu zvýšilo.

### 3.2.2.5 Působení nízké teploty na klíčení

Klíčení semen je jednou z nejzákladnějších a životně důležitých fází růstového cyklu rostlin, které určují vytvoření rostlin a výnos plodin (Hasunuzzaman et al. 2013). Lambers et al. (2008) charakterizuje klíčení jako přechod mezi dvěma vývojovými fázemi, ze semena do



sazenice. Je to složitý jev, zahrnující mnoho fyziologických a biochemických změn, které probíhají ještě před aktivací embrya a prorašením kořínku. (Wahid et al. 2011).

Většina semen vyžaduje vodu, kyslík a vhodnou teplotu pro klíčení (Lambers et al. 2008). Benech-Arnold et al. (2003) uvádí, že neschopnost klíčit v průběhu vývoje semene je výsledkem dormance, situované v obalových pletivech semene (tj. endosperm a oplodí), které obklopují embryo. Tato dormance zabraňuje předčasnému klíčení i přesto, že podmínky pro klíčení jsou s ohledem na teplotu, kyslík a vodu příznivé (Lambers et al. 2008).

Jak uvádí Hopkins a Hüner (2008) prvním krokem při klíčení semen je absorpce vody a rehydratace pletiv semene. Aby semena začala klíčit, musí zvýšit svou vlhkost. Hydratace semene umožňuje, aby byl celý metabolický aparát semene funkční. Jeho rychlost je ale závislá na teplotě. Lambers et al. (2008) dodává, že teplota a zásobení vodou jsou úzce korelovány, ale podle teploty se lépe určuje začátek vlhkého období než dle vlhkosti samotné. Výsledkem chladového stresu a omezeného zásobování vody je narušení osmotické rovnováhy, poškození metabolické aktivity na buněčné úrovni a nadměrná produkce ROS, která vede ke změnám struktury DNA, RNA a proteinů, poškození membrány, snížení respirace a nižší produkci ATP. To v závěru způsobuje ztrátu klíčivosti a vitality (Hussain et al. 2018). Z výsledků studie Bekele et al. (2014) je zřejmé, že se snižující se teplotou klesá počet vyklíčených semen a doba klíčení se prodlužuje.

Lambers et al. (2008) dále uvádí, že teplota ovlivňuje dormanci semen několika způsoby, jako je kolísání teploty během dne, rozsah teplot, při kterých ke klíčení dochází a teplota, které jsou semena exponována, když ještě neklíčí (např. stratifikace). Chladový stres vážně poškozuje klíčení a oslabuje semenáčky, zpomaluje vývoj rostlin a v závěru působí vážné ztráty na výnosech (Hussain et al. 2018). Nomura et al. (2001) upozorňuje, že citlivost na chlad ve fázi klíčení je významně ovlivněna konkrétní odrůdou. Cílem studie Silva-Neta et al. (2015) bylo charakterizovat linie kukuřice, které jsou tolerantní k chladným teplotám během procesu klíčení. Z výsledků byly identifikovány 2 geny (AOX a Zm-AN13), které by do budoucna mohly být užitečné při selekci linií kukuřice tolerantních vůči nízkým teplotám při klíčení. Dalším výsledkem této studie bylo, že semena vykazující nejvyšší citlivost na nízké teploty při klíčení obsahovaly vyšší obsah nasycených mastných kyselin.

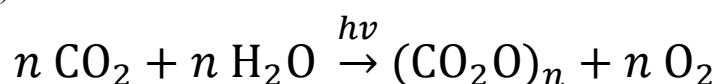
Různé buněčné funkce nejsou stejně citlivé na teplotu. První detekovatelný efekt nízké teploty je přerušení protoplasmatického proudění. Protoplasmatické proudění je jev přímo řízený energií dodávanou respiračními procesy a dostupností energie vysokoenergetického fosfátu. Balota et al. (2010) uvádí, že respirace může sloužit jako užitečné výběrové kritérium pro včasnou toleranci chladu u čiroku. Krokem, který po přerušení protoplasmatického proudění velmi brzo navazuje je poškození fotosyntézy. To je detekovatelné v brzkém stádiu měření výměny plynu a chlorofylovou fluometrií. Oba způsoby detekce mohou být považované za metody včasného varování (Larcher et al. 2003).

### 3.3 Fotosyntéza

Život na planetě je v konečném důsledku závislý na energii pocházející ze Slunce. Fotosyntéza je jediný biologicky významný proces, který dokáže tuto energii využít. Fotosyntetické organismy využívají solární energie k syntéze z uhlíkových sloučenin, které nemohou vzniknout bez vstupu energie. Energie uložená v těchto molekulách může být později využita k pohánění (napájení) buněčných procesů v rostlině a může sloužit jako zdroj energie pro všechny formy života (Taiz & Zeiger 2006).

Duca (2015) uvádí, že fotosyntéza je proces absorpce solární energie molekulami chlorofylu a její přeměna na energii chemických vazeb syntézou organických látek z oxidu uhličitého a vody.

Nátr (1998) uvádí obecně známé schéma:



kde  $h\nu$  je kvantum zářivé energie

Uvedený vztah je třeba chápat jako názorné vyjádření souhrnu všech reakcí, kdy dochází ke vzniku organických látek  $(\text{CH}_2\text{O})_n$  a k uvolnění molekulárního kyslíku ( $\text{O}_2$ ), a to z oxidu uhličitého a vody.

Sluneční záření může být efektivně zachyceno a převedeno na chemickou energii všemi fototrofy, včetně fotosyntetických bakterií, sinic, řas a cévnatých rostlin, a to prostřednictvím jejich specifických fotosyntetických aparátů (Casella et al. 2016). Pro potřeby této práce jsou dále rozvíjeny jen cévnaté rostliny.

#### 3.3.1 Specializovaný orgán – list

Fotosyntéza probíhá ve všech buňkách rostliny, které obsahují zelené pigmenty, ale specializovaným orgánem pro průběh fotosyntézy je list (Duca 2015).

Listy jsou nejvýznamnější morfologickou strukturou rostlin adaptovanou pro zabezpečení celého komplexu procesů označovaných jako fotosyntéza (Nátr 1998). Jsou to dokonale specializované orgány, které umožňují rostlině zachytit světlo nezbytné pro fotosyntézu (Lambers et al. 2008). Jedná se o tenké ploché útvary, již napohled naznačují vývojové přizpůsobení k maximální absorpci slunečního záření a k maximálnímu zkrácení transportních drah při výměně plynů mezi vnitřním prostorem listu a okolní atmosférou (Nátr 1998).

Nejvíce fotosynteticky aktivní pletivo vyšších rostlin je mezofyl listů (Taiz & Zeiger 2006). Zvýšení poměru mezi povrchem a objemem listu není tedy dosaženo jen vnějším tvarem, tj. vytvářením velmi plochých orgánů. Významně se uplatňuje i vnitřní povrch listu jímž se označuje povrch buněk mezofylu vytvářejících ohraničení intracelulárních prostorů. Tento vnitřní povrch je 10 až 20krát větší než vnější povrch listu. Tím se neobyčejně zvětšuje plocha, na níž probíhá výměna plynů mezi buňkami mezofylu a vzduchem v intercelulárách (Nátr 1998). Mezofylové buňky mají chloroplasty, které obsahují speciální zelené pigmenty absorbující světlo, chlorofyly (Taiz & Zeiger).

Některé rostliny pocházející z tropických a subtropických oblastí (jako je kukuřice, cukrová třtina atd.) mají částečně odlišnou anatomickou strukturu listu, oproti rostlinám rostoucím v mírném pásu. Adaptivní změny vyvinuté pro plnění fotosyntetických funkcí byly zaměřeny, jak na zajištění optimálních podmínek intenzivní absorpce slunečního záření, tak i na ochranu buněk před fotooxidací způsobenou zářením viditelného spektra a UV zářením (Duca 2015).

### 3.3.1.1 Chloroplasty

Chloroplasty jsou orgány specializované na plnění fotosyntetických funkcí. Nátr (1998) uvádí, že chloroplast je nejmenší strukturní i funkční jednotka, která je schopna i po izolaci absorbovat záření, fixovat CO<sub>2</sub> a zabudovávat uhlík do sacharidů. Počet chloroplastů se pohybuje od 20 do 100 kusů na buňku, v závislosti na druhu, podmínkách prostředí a listovém pletivu (Duca 2015). Pod dvěma obalovými membránami chloroplastu je vnitřní amorfní médium, stroma. Typickými útvary chloroplastů jsou tylakoidy, představující rozprostřené specializované systémy vnitřní membrány (Nátr 1998). Ty mají buď formu překrytých disků (granální tylakoidy) nebo procházejí chloroplastem z jednoho okraje na druhý (tylakoidní stroma).

Pro rostliny s typem fotosyntézy C<sub>4</sub> je charakteristický jiný typ chloroplastu. Tyto chloroplasty obsahují pouze stromatální tylakoidy, jsou tzv. agranální (Duca 2015).

V posledních letech se prozkoumává ještě další oblast tylakoidu, tzv. grana margin. Jedná se o okrajovou část granálních tylakoidů, která by podle výzkumů mohla mít jinou funkci než samotná grana. Výsledky naznačují, že grana margin fungují jako zóna degradace a rozebrání (demontáže) pro světlem poškozený fotosystém II (Koochak 2019).

Membrány tylakoidů lze považovat za lipidovou dvojvrstvu, na níž jsou uloženy a do níž jsou vnořeny bílkoviny. Absorpci kvant záření a jejich přenos zabezpečují pigment-proteinové komplexy, které jsou tvořeny chlorofyly a karotenoidy vázanými na bílkoviny (Nátr 1998). Chemické složení chloroplastu je shrnuto v Tabulce 1.

Tab. 1: Chemické složení chloroplastu (v % sušiny) (převzato z Duca 2015)

Proteiny (enzymy, membrány, stroma)	35-55
Lipidy (membrány, stroma)	20-30
Mínérální prvky (iontová čerpadla, pigmenty, stroma)	6-16
Sacharidy (membrány, stroma)	8-10
DNA/RNA (stroma)	≤0,5/2-3
Chlorofyl (membrány)	5-9
Karotenoidy (membrány)	4-5

Lambers et al. 2008 dodává, že pigmenty zabudované do vnitřních membránových struktur (tylakoidů) absorbují hlavní část energie fotosynteticky aktivní radiace (PAR; 400 až 700 nm). Nátr (1998) upřesňuje, že k fotosyntetickým pigmentům patří chlorofyly, fykobiliny a karotenoidy. Existuje několik typů chlorofylů, ale suchozemské rostliny mají pouze dva z nich. Jedná se o chlorofyl *a* a chlorofyl *b*. Ty společně tvoří světlo sběrné komplexy chl *a/b*

vazebných proteinů (LHC), které absorbují většinu světla. LHC též anténní systémy či světlo sběrné komplexy, zachycující kvanta záření a převádějící takto získanou elektronovou excitační energii do reakčního centra (RC). Studie Kume et al. (2018) se zabývá zjištěním rozdílné absorpční schopnosti různých typů chlorofylů u rostlin. Uvádí, že důvodem, proč rostlina využívá kombinaci obou chlorofylů souvisí se sladěním příjmu přímé a rozptýlené fotosynteticky aktivní radiace (PAR), a tím bezpečného a účinného využití slunečního záření na Zemi. S těmito komplexy jsou pak spojeny cytochromy a chinony i enzymy podílející se na oxidaci vody a redukci  $\text{NADP}^+$  (Nátr 1998).

Počátek procesu fotosyntézy stručně popisuje Lambers et al. (2008). Světlo je zachyceno velkým množstvím chloroplastů, které jsou v těsné blízkosti vzduchu, ale také v blízkosti vodivých pletiv, která dodávají vodu a exportují produkty fotosyntézy. K absorpci  $\text{CO}_2$  dochází přes listové póry, stomata, která jsou schopna rychle regulovat otevření/uzavření průduchové štěrbin. Jakmile je uvnitř listu,  $\text{CO}_2$  difunduje z mezibuněčných prostorů do míst karboxylace v chloroplastu ( $\text{C}_3$  druhy) nebo v cytosolu ( $\text{C}_4$  a CAM druhy). Konečnými produkty reakcí katalyzovaných osvětlenými tylakoidy je  $\text{O}_2$ ,  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  a ATP (Nátr 1998), ty jsou dále využívány k syntéze cukrů v reakcích fixace uhlíku. Tyto syntetické procesy probíhají ve stroma chloroplastu (Taiz & Zeiger 2006).

### 3.3.2 Rozdělení a průběh fotosyntézy

Podle moderní teorie týkající se molekulárního mechanismu fotosyntézy je tento proces řetězem po sobě jdoucích redoxních reakcí, které vyžadují světlo v počátečních fázích, zatímco následné kroky se mohou vyskytovat i ve tmě, tedy za nedostatku světla. Většina autorů se drží častějšího rozdělení a to, že fotosyntéza probíhá ve dvou fázích: světelná fáze (Hillova fáze), která se děje v granálních tylakoidech a temnostní fáze probíhající ve stroma chloroplastu (Duca 2015).

Primární procesy fotosyntézy se vyskytují v chloroplastech (Lambers et al. 2008). Fotosystém I (PSI) a komplex  $\text{H}^+$ -ATPáza jsou umístěny ve stromatálních tylakoidech, zatímco fotosystém II (PSII) a protonová čerpadla v granálních tylakoidech (Duca 2015).

#### 3.3.2.1 Fotosyntetické komplexy

Primární reakce fotosyntézy jsou zprostředkovány řadou fotosyntetických komplexů spojených nebo vložených do fotosyntetických membrán (Casella et al. 2016). V membráně tylakoidů se nacházejí 4 supramolekulární komplexy (Nátr 1998). Casella et al. (2016) tyto komplexy rozděluje podle funkce na komplexy anténní, reakční centra, cytochrom a ATP-syntázu (ATPáza).

##### 3.3.2.1.1 Anténní komplexy (light-harvesting complex – LHC)

Každý fotosystém je tvořen reakčním centrem konjugovaným s donory a akceptory elektronů společně s anténními pigmenty (Duca 2015). Podobně vyjadřuje také Nátr (1998), že oba fotosystémy obsahují komplex jádra a světlosběrný systém. Zelené řasy a vyšší rostliny

obsahují integrální LHCI a LHCII jako proteiny periferní antény spojené s fotosystémy PSI a PSII. Migrace anténních komplexů mezi PSII a PSI v membráně tylakoidu je nezbytná pro vyvažování excitační energie mezi oběma fotosystémy během přechodných stavů (Casella et al. 2016).

#### 3.3.2.1.2 Reakční centra

Fotosyntetická reakční centra jsou pigment-proteinové komplexy, které převádějí excitační energii z anténních komplexů na chemickou potenciální energii (Casella et al. 2016). Duca (2015) doplňuje, že podle absorpčních charakteristik jsou reakční centra označena jako P680 (PSII) a P700 (PSI).

Reakční centrum **PSII** je molekula chlorofylu s absorpčním píkem 680 nm, nazývaný P<sub>680</sub>. Obsahuje asi 30krát více molekul chl *a* než chl *b*, a několik molekul proteinu, které udržují molekuly chlorofylu v požadované poloze na membránách tylakoidů (Lambers et al. 2008). Tento komplex katalyzuje rozklad vody za uvolnění molekulárního kyslíku. PSII a komplexy LHC chl *a/b* jsou lokalizovány téměř výhradně ve stěsnaných granálních tylakoidech (Nátr 1998). Studie Nosek et al. (2017) prováděná na *Arabidopsis thaliana* dokládá, že PSII rostlin má pozoruhodnou schopnost tvořit různé větší sestavy, které mohou řídit fotochemické využití absorbované světelné energie, při měnícím se prostředí.

Reakční centrum **PSI** je dimer chlorofylu s absorpčním píkem 700 nm, nazývaný P<sub>700</sub>. Obsahuje okolo 110 „běžných“ molekul chlorofylu *a*, a několik molekul chlorofylu *b*, a přibližně 11 různých molekul proteinů, které udržují molekuly chlorofylu v požadované poloze na membránách tylakoidů. Počet jednotek PSI lze kvantifikovat stanovením množstvím molekul P<sub>700</sub> (Lambers et al. 2008). PSI získává elektron pro své RC z cytochromového komplexu b<sub>6</sub>/f a jeho přenosem přes ferredoxin redukuje NADP<sup>+</sup>. PSI a jeho anténní komplexy jsou převážně v nestěsnaných membránách stromatálních tylakoidů. (Nátr 1998).

Proces ve fotosystémech shrnuje Nátr (1998). V každém z obou fotosystémů jsou speciálně vázané molekuly chlorofylu *a*, které se po přenosu excitační energie z antény rychle oxidují. Touto separací se vytvoří velký rozdíl redoxního potenciálu mezi kationtovým radikálem (P680<sup>+</sup> nebo P700<sup>+</sup>) a bezprostředním akceptorem. Toto je první krok fotosyntetické fixace zářivé energie. Tento stav je rychle stabilizován následnou sekvencí přenosu elektronů. Tímto rychlým přenosem elektronů je znemožněna rekombinace silně oxidovaných molekul chlorofylu *a* v RC a silně redukujícího primárního akceptoru.

Fotosystémy musí zajistit shodu (spolupráci) jednoelektronové separace elektrického náboje s multielektronovými následnými reakcemi, což jsou na straně akceptoru PSI dvouelektronová redukce NADP<sup>+</sup> a na straně donoru PSII je to čtyřelektronová oxidace H<sub>2</sub>O. Tyto oxidačně-redukční reakce jsou katalyzovány metaloproteinovými klastry obsahujícími buď Fe (PSI) nebo Mn (PSII). Mobilními komponentami přenosu elektronů jsou malé, ve vodě rozpustné bílkoviny ferredoxin a dále plastocyanin a v tučích rozpustný plastochinon.

Studie Moustaka et al. (2018) se zabývala různou reakcí fotosystémů na fytotoxicitu hliníku (Al<sup>3+</sup>) u rostlin pšenice tvrdé a tritikale. Z výsledků vyplývá, že u obou rostlin byl fytotoxicitou Al<sup>3+</sup> více ovlivněn PSII než PSI. Přičemž oba dva fotosystémy tritikale byly více tolerantní (vykazovaly lepší výkon) k fytotoxicitě hliníku než pšenice tvrdá.

### 3.3.2.1.3 Komplex cytochromu

Cytochrom  $b_6/f$  přenáší elektrony z PSII na PSI (Nátr 1998). Komplex cytochromu  $b_6/f$  je zodpovědný za reakce přenosu elektronů spojené s protonem, které propojují dvě světlo zachytávající RC fotosystémů v elektronovém transportním řetězci (ETC) oxygenní fotosyntézy a obsahují krok omezující rychlost přenosu celého ETC popisuje Cramer a Hasan (2016).

### 3.3.2.1.4 ATP-syntáza

ATPáza je velký proteinový komplex, který katalyzuje syntézu ATP z ADP a anorganického fosfátu (Casella et al 2016). Ke katalyzaci využívá protonový gradient vytvořený přenosem elektronů na vnějším (stromatálním) povrchu tylakoidní membrány (Nátr 1998). Studie Huang et al. (2018) zdůrazňuje význam ATP-syntázy pro fotosyntézu při vývoji listů. uvádí, že ATP-syntáza má význam také při optimalizaci kompromisu mezi asimilací  $CO_2$  a fotoprotekcí během zrání listů.

Casella et al. (2016) doplňuje, že komplexy jsou vzájemně strukturálně a funkčně propojeny prostřednictvím fotosyntetického transportního elektronového řetězce (ETC).

## 3.3.3 Světelná fáze

V chloroplastu je světelná energie převedena dvěma různými fotosystémy, na chemickou energii (Taiz & Zeiger 2006). Duca (2015) uvádí, že primární procesy světelné fáze spočívají v zachycení světla ve formě fotonů anténními pigmenty. V této fázi dochází k absorpci světla molekulou chlorofylu *a* za účasti pomocných pigmentů (chlorofylu *b*, karotenoidů, fykobilinů) a transformace sluneční energie na ATP a  $NADPH + H^+$ .

Pigmentové molekuly, absorbující světelnou energii, vstupují do fáze excitace elektronu (elektron přejde na vyšší energetickou úroveň). V tomto excitovaném stavu je chlorofyl stabilní po dobu 9 až 10 sekund, po níž disponuje dostupnou energií jedním ze tří způsobů, jak uvádí Lambers et al. (2008):

- excitovaný chlorofyl se může vrátit do svého stavu tím, že změní svou excitační energii na **teplo**. V tomto případě není vyslán (vyzařován) žádný foton.
- Excitovaný elektron může znovu vyslat foton a tím se vrátí do svého základního stavu. Tento proces je nazýván **fluorescence**.
- energie může být přenesena přes ostatní molekuly chlorofylu až do RC, kde je využita při **fotochemii**, při které energie excitovaného stavu způsobuje biochemické reakce. Tento proces je velmi účinný a představuje přibližně 90 % přenosu energie za příznivých podmínek prostředí.
- Taiz a Zeiger (2006) uvádí ještě čtvrtý způsob, a to že chlorofyl se může podílet na přenosu energie během kterého excitovaný elektron přenáší svou energii na jinou molekulu.

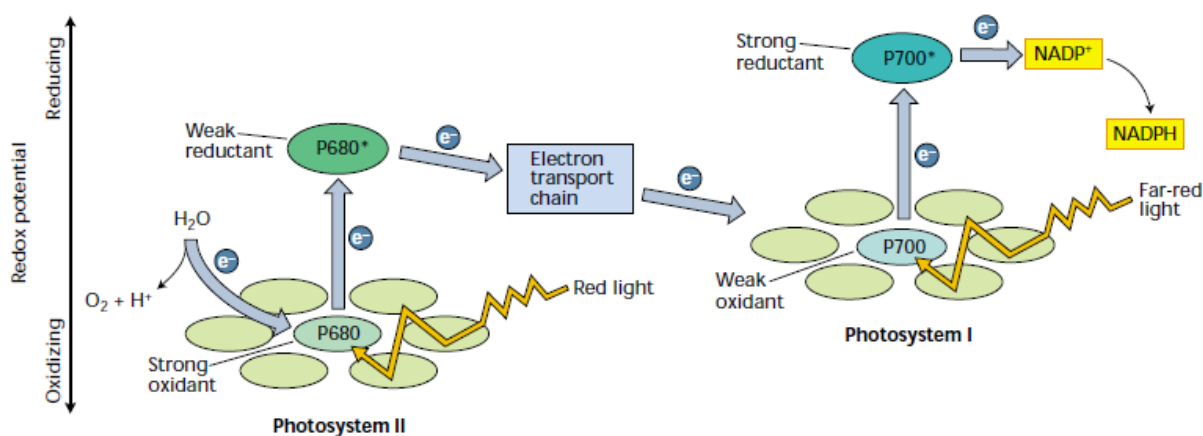
Excitační energie zachycená pigmenty je přenesena do RC PSI a PSII (Lambers et al. 2008). Duca (2015) upřesňuje, že první reakce následující po světelné absorpci a excitaci chlorofylu

v RC jsou procesy zahrnující přenos elektronů mezi různými makromolekulárními subjekty. Tento přenos se děje prostřednictvím ETC, který spojuje obě reakční centra pomocí cytochromu b<sub>6</sub>f.

Excitační energie je postupně předána z antén na P680, kde dojde k separaci elektrického náboje a elektron je předán na feofytin, představující primární akceptor PSII. Oxidovaný P680 je redukován elektronem uvolněným z molekuly vody.

Absorpcí kvanta záření světlosběrným systémem PSI a předání excitované energie dochází k separaci elektrického náboje molekuly P700 v RC PSI. Rozlišuje se necyklický přenos elektronů a s ním spojená necyklická fosforylace a cyklický přenos elektronů a následná cyklická fosforylace (Nátr 1998).

Při necyklickém přenosu elektronů je NADP terminálním akceptorem elektronů z PSI, což vede k tvorbě NADPH (Lambers et al. 2008). Na základě kvantového výtěžku fotosyntézy, chemického složení transportérů a redox-potenciálních hodnot, bylo navrženo schéma reakcí přenosu elektronů ve světelné fázi fotosyntézy (acyklický transport elektronů). Vzhledem k podobnosti s písmenem Z se toto schéma nazývá Z-schéma (Duca 2015). Zjednodušené Z-schéma je znázorněné na Obrázku 3.



Obr. 3: Z-schéma (převzato z Taiz & Zeiger 2006)

Při cyklickém transportu elektronů se elektrony přenášejí z PSI na cytochrom v lumenu tylakoidu, čímž přispívají k protonové extruzi (protlačení protonů) a syntéze ATP, a poté se vracejí zpět do reakčního centra PSI (Lambers et al. 2008). V tomto případě je fixovaná energie využita jen na vytváření protonového gradientu a jím zabezpečované tvorby ATP. Cyklický přenos elektronů a následně cyklická fosforylace probíhá jen za účasti fotosystému PSI (Nátr 1998).

### 3.3.3.1 Fotofosforylace

Taiz a Zeiger (2006) upozorňují, že světelná energie je také využívána k vytváření protonové hnací síly přes tylakoidní membránu, kterou je syntetizována ATP. V procesu jsou protony přenášeny přes membránu do lumenu tylakoidu, kromě protonů uvolněných během rozštěpení vody (Lambers et al. 2008). Absorpcí kvant záření a přenosem elektronů se v lumenu tylakoidů zvýší koncentrace  $H^+$  (Nátr 1998). V důsledku toho se lumen okyselí a pozitivně

nabíje. Elektrochemický gradient přes tylakoidní membránu, který představuje hybnou sílu, je následně využitý k fosforylaci ADP, čímž se produkuje ATP. Tato reakce je katalyzována ATPázou (Lambers et al. 2008).

Většina elektronů v závěru redukuje  $\text{NADP}^+$  na NADPH a oxiduje  $\text{H}_2\text{O}$  na  $\text{O}_2$  (Taiz & Zeiger 2006). Výslednými produkty světelné fáze fotosyntézy jsou NADPH +  $\text{H}^+$ , ATP a  $\text{O}_2$  (Duca 2015). NADPH a ATP produkované tímto procesem jsou následně použity v redukčním cyklu uhlíku (Lambers et al. 2008).

### 3.3.4 Temnostní fáze

Lambers et al. (2008) uvádí, že se tato fáze může probíhat i za nedostatku světla. Jsou zde využity produkty světelné fáze fotosyntézy. V temnostní fázi fotosyntézy dochází k fixaci uhlíku primárním akceptorem (Duca 2015).  $\text{CO}_2$  proudí z atmosféry přes stomata do karboxylačních míst, kde je  $\text{CO}_2$  fixován (Kodama & Yamori 2016).

Existují různé metody redukce (fixace) oxidu uhličitého:

#### 3.3.4.1 Benson-Calvinův cyklus – fotosyntetický typ C3

Podle Duca (2015) je specifický pro skupinu vyšších rostlin a zahrnuje cyklus enzymatických reakcí, které lze rozdělit do tří hlavních fází: karboxylace, redukce a regenerace (viz Obrázek 4).

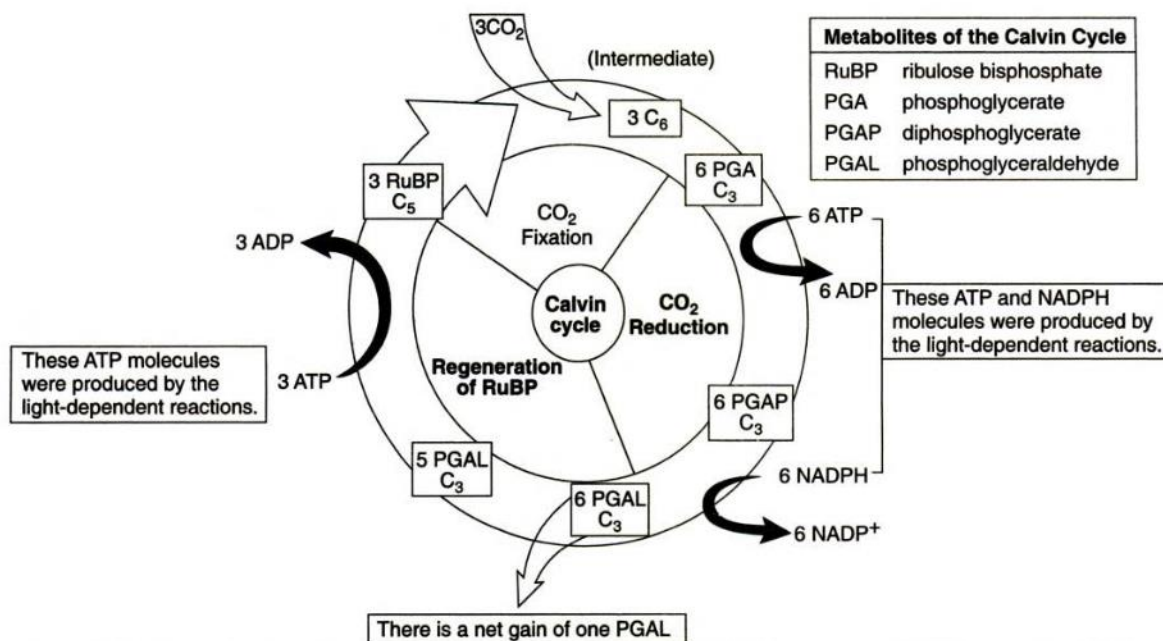
Kodama a Yamori (2016) uvádí, že v chloroplastu katalyzuje enzym Rubisco (ribulosa-1,5-bisfosfátkarboxyláza/oxidáza) pomocí  $\text{CO}_2$  karboxylaci ribulosa-1,5-bisfosfátu (RuBP) a produkuje kyselinu 3-fosfoglycerovou (PGA). Nejprve se tvoří nestabilní sloučenina se 6 atomy uhlíku, která se poté rozdělí na dvě molekuly kyseliny 3-fosfoglycerové (Duca 2015). Protože prvním stabilním produktem v tomto cyklu je 3-fosfoglycerát, tedy molekula se třemi atomy uhlíku, označujeme rostliny s tímto typem fixace  $\text{CO}_2$  jako rostliny C3 (Nárt 1998).

Při využití ATP a NADPH vzniklých ve světelné fázi, se PGA redukuje na glyceraldehyd-3-fosfát (PGAL nebo G3P), z nichž některý je exportován do cytozolu výměnou za anorganický fosfát. V cytozolu je PGAL využita k produkci sacharózy a dalších metabolitů, které jsou exportovány pomocí floému nebo jsou využívány v listech. Některé PGAL jsou v chloroplastu využívány k tvorbě škrobu, který je poté uložen v chloroplastu.

Většina zbývajících PGAL v chloroplastu je využita k regeneraci RuBP prostřednictvím řady reakcí, které jsou součástí Calvinova cyklu, ve které jsou spotřebovávány ATP a NADPH (Lambert et al. 2008).

Kodama a Yamori (2016) dodávají, že ATP a NADPH produkované přenosem elektronů v chloroplastu se používají k produkci cukrů a škrobu, ale také k regeneraci RuBP z PGA v Calvinově cyklu.





Obr. 4: Calvinův cyklus (převzato z Jain 2008)

### 3.3.4.2 Hatch-Slack-Karpilův cyklus – C4

Na počátku šedesátých let se zjistilo, že v některých rostlinách tropického nebo subtropického původu (kukuřice, cukrová třtina, čirok, proso atd.) se fotosyntéza odlišuje od základního cyklu (Duca 2015). Mezi jednotlivými fotosyntetickými druhy patří cyklus C4 a CAM, k evolučně odvozeným od fotosyntézy typu C3 (Lara & Andreo 2016). Bräutigam et al. (2018) dodává, že se v některých rostlinách vyvinul cyklus s vyspělejším prouděním nazvaný C4 fotosyntéza, který se potýkal s pomalostí a nízkou specifícností enzymu Rubisco, pro fixaci uhlíku v rostlině.

Primární produkty vznikly v důsledku redukce CO<sub>2</sub> a skládají se ze 4 atomů uhlíku. Proto se tento typ asimilace uhlíku nazývá fotosyntéza typu C4. Tento fotosyntetický typ je běžný pro více než 1 000 druhů pocházejících z tropických oblastí, které jsou přizpůsobeny podmínkám intenzivního osvětlení a vysokým teplotám (Duca 2015). V některých podmínkách prostředí je systém C4 účinnější, protože zvyšuje koncentrace CO<sub>2</sub> v buňkách pochev cévních svazků, čímž potlačuje aktivitu enzymu Rubisco, a tím i fotorespiraci (Lara & Andreo 2016). Specifita metabolismu rostlin C4 spočívá tedy i v tom, že představuje funkční spojení přenosu CO<sub>2</sub> do buněk pochev cévních svazků s jeho hromaděním v místech karboxylace RuBPKarboxylázou. Tímto způsobem dosahuje komplex strukturních a funkčních znaků rostlin C4 rychlé prvotní fixace CO<sub>2</sub> buňkami mezofylu i při nízkých koncentracích CO<sub>2</sub> a na druhé straně při nezměněných vnějších podmínkách zajišťuje srovnatelné rychlosti fixace CO<sub>2</sub> RuBPKarboxylázou zvýšením koncentrace CO<sub>2</sub> v buňkách pochev cévních svazků (Nátr 1998). Předpokládá se, že metabolismus C4 rostlin méně reaguje na zvýšenou koncentraci CO<sub>2</sub>. Tento předpoklad testovala studie Bordignon et al. (2019). Pěstovali rostliny kukuřice a prosa ve zvýšené koncentraci CO<sub>2</sub> a při zvýšené teplotě, a poté je vystavily osmotickému stresu a akutnímu tepelnému šoku. Výsledky studie ukazují, že provedené kroky zlepšily buněčnou

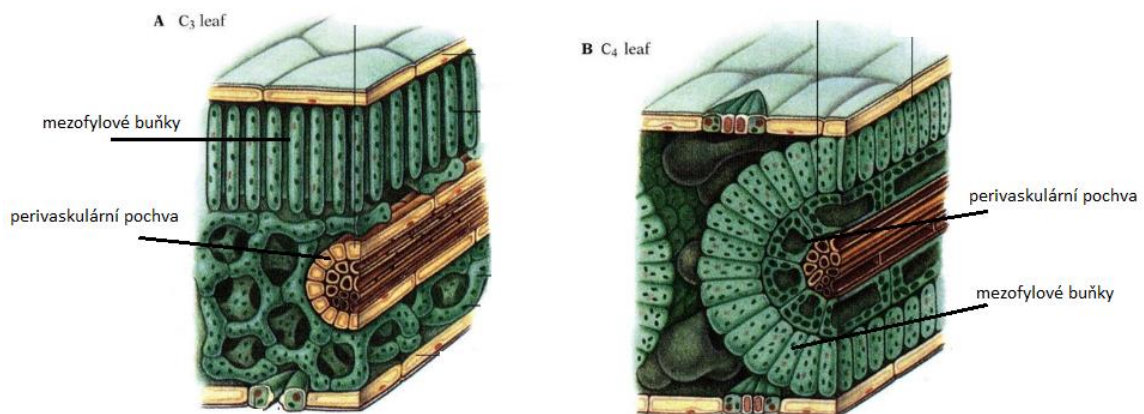
toleranci rostlin obou druhů. Zdá se ale, že kukuřici více prospívala zvýšená koncentrace CO<sub>2</sub>, zatímco proso mělo větší prospěch ze zvýšené teploty.

Dalším důsledkem je potlačení fotorespirace (Nátr 1998). C<sub>4</sub> fotosyntéza byla vyvinuta, aby překonala kinetické omezení fixace uhlíku enzymem Rubisco obohacením CO<sub>2</sub> v jeho aktivním místě. Obohacení CO<sub>2</sub> potlačuje zbytečnou vedlejší reakci (fotorespiraci) za cenu syntézy a přenosu metabolitu v cyklické biochemické pumpě CO<sub>2</sub> (Bräutigam et al. 2018). Lambers et al. (2008) vysvětluje, že C<sub>4</sub> rostliny mají mechanismus pro zvýšení parciálního tlaku CO<sub>2</sub> v místě Rubisca do té míry, že reakce oxygenázy je u Rubisca prakticky zcela potlačena (zablokována). V důsledku toho mají rostliny C<sub>4</sub> zanedbatelnou míru fotorespirace.

### 3.3.4.2.1 Stavba listu rostliny typu C<sub>4</sub>

Rostliny, ve kterých probíhá fotosyntéza C<sub>4</sub> cyklu, mají listy se specifickou anatomickou strukturou (Duca 2015). Porovnání anatomické struktury C<sub>3</sub> a C<sub>4</sub> rostlin je zobrazeno na Obrázku 5. Taiz a Zeiger (2006) uvádí, že buňkami typickými pro C<sub>3</sub> jsou mezofyly. Oproti tomu typický list C<sub>4</sub> má dva odlišné typy buněk obsahujících chloroplasty – mezofylové buňky a buňky pochev cévních svazků (bundle sheath cells, BSCs). Enzym Rubisco není přítomen v mezofylových buňkách, kde neprobíhá kompletní Calvinův cyklus a nehromadí se v nich škrob. CO<sub>2</sub> je fixován enzymem Rubisco, který je v chloroplastu buněk pochev cévních svazků (Lambers et al. 2008). Pevná stěna BSCs, zabraňuje difundování CO<sub>2</sub> ven z pochvy a také omezuje difuzi plynného CO<sub>2</sub> dovnitř a O<sub>2</sub> ven z místa fotosyntézy (Ubierna et al. 2016).

Věčitý typ (něm. *Kranz* = věnec) anatomické struktury listu je jedním ze znaků, jimiž se vyznačují C<sub>4</sub> rostliny. Pro tuto věčitou strukturu je charakteristickým rysem parenchymatická pochva cévních svazků jejíž buňky často obsahují agranální chloroplasty vesměs s velkými škrobovými zrny (Nátr 1998). Upřesnění přináší Lambers et al. (2008), který uvádí, že se jedná o plášť tlustostěnných buněk, které obklopují cévní svazek.



Obr. 5: Struktura listové čepel v rostlinách s fotosyntézou C<sub>3</sub> a C<sub>4</sub> (převzato z Duca 2015)

Operace C<sub>4</sub> cyklu vyžaduje kooperativní úsilí obou buněčných typů. Tyto dva typy buněk spojuje rozsáhlá síť plasmodezmat a tím poskytuje cestu pro průtok metabolitů mezi typy buněk (Taiz & Zeiger 2006). Fotosyntéza C<sub>4</sub> vyžaduje koordinaci biochemických funkcí mezi dvěma typy buněk a specifickou expresí příslušných enzymů v buňce (Lara & Andreo 2016).

#### 3.3.4.2.2 Proces fotosyntézy u C4 rostlin

Stručný popis uvádí Lara a Andreo (2016), v C4 rostlinách je atmosférický CO<sub>2</sub> nejprve začleněn do kyselin C4 v mezofylových buňkách fosfoenolpyruvátkarboxylázou (PEP-karboxylázou). Tyto kyseliny C4 jsou pak transportovány do BSCs, kde jsou dekarboxylovány a tím je uvolněný CO<sub>2</sub> začleněn do cyklu C3. Winter et al. (2019) upřesňuje, že karboxylace probíhá v tenkostěnných mezofylových buňkách, které obklopují tlustostěnné BSCs. Schematicky znázorněný proces je zobrazen na Obrázku 6.

Podle Taiz et Zeiger (2006) zahrnuje základní cyklus C4 rostlin 4 stádia:

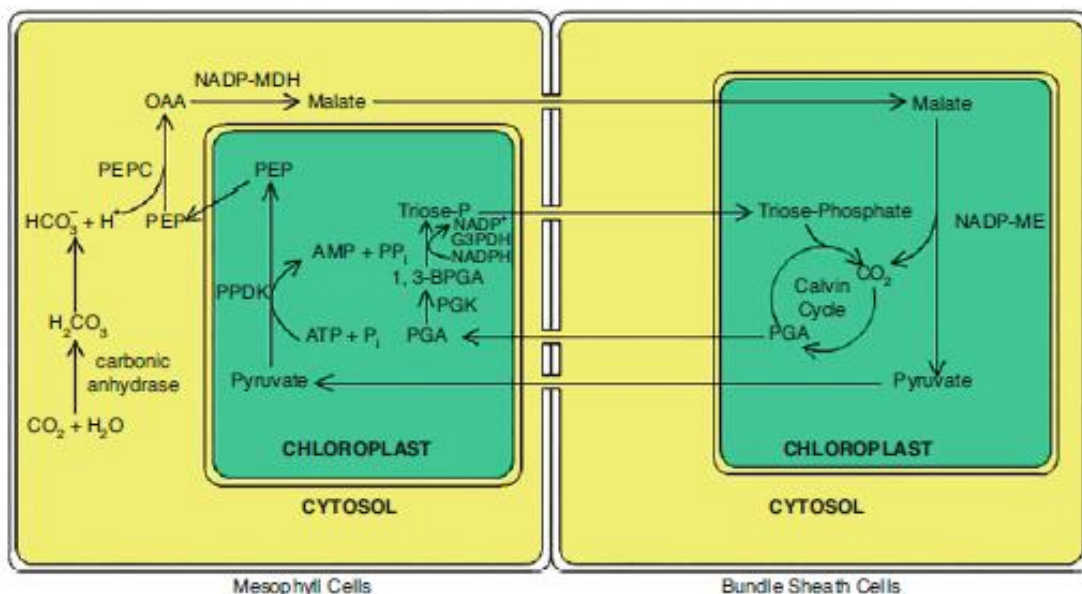
- Fixace CO<sub>2</sub> karboxylací fosfoenolpyruvátu (PEP) v mezofylových buňkách, která utváří C4 kyseliny (malátovou nebo aspartátovou).
- Transport C4 kyselin do BSCs.
- Dekarboxylace C4 kyselin uvnitř BSCs a generování CO<sub>2</sub>, který je redukován na sacharid přes Calvinův cyklus.
- Transport C3 kyselin (pyruvát nebo alanin), které jsou vytvořeny zpětnou dekarboxylací do mezofylových buněk, kde regenerují akceptor CO<sub>2</sub>-PEP.

Duca (2015) tento popis dále rozvádí. Fixace oxidu uhličitého probíhá v cytoplazmě mezofylových buněk karboxylační reakcí PEP za přítomnosti PEP-karboxylázy, **výsledkem je sloučenina se 4 atomy uhlíku - oxaloctová kyselina (oxalacetát)**. V chloroplastu se kyselina oxaloctová za přítomnosti NADPH+H<sup>+</sup> vytvořeného během světelné fáze a NADP-maláthydrogenázy redukuje na kyselinu jablečnou (malát). Za přítomnosti iontů NH<sub>4</sub><sup>+</sup> může být kyselina oxaloctová aminována a výsledkem potom je kyselina **asparágová (aspartát)**.

Malát (nebo aspartát) je přes plasmodesmy dopraven z mezofylových buněk do BSCs, které jsou propustné pro organické kyseliny, ale jsou nepropustné pro CO<sub>2</sub>.

Zde se dekarboxyluje s tvorbou pyruvátu (nebo alaninu) a CO<sub>2</sub>. Lambert et al (2008) dodává, že CO<sub>2</sub> je pak fixován enzymem Rubisco v chloroplastech buněk pochev cévního svazku, které mají normální Calvinův cyklus jako u rostlin C3.

Pyruvát z perivaskulárního pláště je transportován zpět do chloroplastů mezofylových buněk, kde prochází fosforylací v přítomnosti ATP a fosfoenolpyruvát syntázou, čímž se regeneruje primární akceptor – kyselinu fosfoenolpyruvovou (Duca 2015).



Obr. 6: Typ C4 rostlin: NADP-ME (NADP malát enzymový typ), nacházející se například u *Sorghum bicolor* a *Zea mays* (převzato z Lal 2018)

Bylo prokázáno, že i rostliny C4 mají všechny enzymy Calvinova cyklu. Fixace  $\text{CO}_2$  zde probíhá doslova dvakrát. Atmosférický  $\text{CO}_2$  je nejprve fixován v buňkách mezofylu, a to v cytoplasmě PEPkarboxylázou. Vzniklý oxalacetát se mění na malát nebo aspartát (podle druhu rostlin) a je pak transportován do BSCs. Zde je dekarboxylací uvolněn  $\text{CO}_2$  a znovu fixován tentokrát cyklem Calvinovým (Nátr 1998). V C4 rostlinách tedy dochází za světla ke všem procesům spojeným s fotosyntetickou asimilací  $\text{CO}_2$ . PEPkarboxyláza a Rubisco jsou aktivní současně, ale jsou prostorově odděleny dvěma odlišnými typy buněk (Winter et al. 2019). Vzhledem k tomu, že se tohoto mechanismu fotosyntézy účastní dva typy buněk se dvěma typy chloroplastů, je tento konkrétní typ fotosyntézy považovaný za „kooperativní fotosyntézu“ (Duca 2015).

Další dva typy redukce  $\text{CO}_2$  již pro potřeby této práce dále rozepisovány nebudou. Jedná se o:

- metabolismus organických kyselin u čeledi *Crassulaceae* – CAM („crassulacean acid metabolism“)
- fotorespirace

### 3.4 Fluorescence chlorofylu *a*

Při fluorescenci se obecně jedná se o emisi světelných fotonů během relativně pomalého procesu návratu excitonu (energizovaného elektronu) z prvního excitovaného singletového stavu do základního stavu. Vyzařovaný foton má nižší energii než jeho excitovaná forma, takže emise jsou v delším rozsahu vlnových délek (Bhatla 2018).

Podle Goltsev et al. (2016) spočívá jedna z nejvíce informativních metod založených na monitorování biofyzikálních vlastností právě v detekci a analýze fluorescence chlorofylu *a*. Jak uvádí Ajigboye et al. (2018) chlorofylová fluorescence (ChlF) je vysoce účinný nástroj, který se často používá ke zkoumání reakcí při fotosyntéze, protože fotosyntetický aparát a jeho reakce na stresové faktory poskytují spolehlivý zdroj informací o stavu rostliny (Goltsev et al. 2016). Ajigboye et al. (2018) dále uvádí, že tato technika je citlivá a neinvazivní, schopná poskytnout rychlé (v závislosti na zvolené metodě – od několika sekund do několika minut (Kalaji et al. 2017)) a podrobné informace o struktuře a funkci PSII, a o tom, jak fotosyntéza reaguje na environmentální a vnitřní stimuly (Ajigboye et al. 2018). Analýza fluorescenční křivky chlorofylu umožňuje posouzení interakcí mezi fotochemickými reakcemi během světelné fáze a účinnosti biochemických reakcí během temnotní fáze fotosyntézy (Kalaji et al. 2017). Emise fluorescence chlorofylu z PSII je ovlivněna, jak stavem rostliny, tak i podmínkami prostředí (Xia et al. 2018).

Úzká spojitost a regulace rychlosti reakce jsou nezbytné pro dosažení vysoké účinnosti celého procesu fotosyntézy (Kalaji et al. 2018). Jak uvádí Lal (2018) účinnost fotosyntézy může být měřena také fluorescencí. Čím vyšší je účinnost fotosyntézy, tím menší bude fluorescence a naopak.

Nedávný vývoj chlorofylové fluorescence představuje potenciálně cenný, nový přístup ke studiu fotochemické účinnosti listů. Analýza fluorescenčních signálů poskytuje podrobné informace o stavu a funkčnosti reakčních center PSII, světlosběrných anténních komplexů a obou, donorových i akceptorových, stran PSII (Kalaji et al. 2016).

#### 3.4.1 Fyziologie fluorescence chlorofylu

Jak popisuje Kalaji et al. (2017) sluneční energie dosahující povrchu listů v proudu fotonů je absorbována molekulami fotosyntetických pigmentů, především chlorofylem, ve světlosběrných komplexech. Absorbovaná energie ve formě excitovaných elektronů molekul pigmentu může být přenesena z těchto komplexů do reakčních center PSII a PSI, kde poté aktivuje fotochemické reakce. Některá excitační energie je ale při přesunu ztracena jako teplo nebo je emitována jako chlorofylová fluorescence ještě před tím, než dosáhne reakčního centra (RC).

Excitovaný chlorofyl může reemitovat foton a tím jej vrátit zpět na základní stav (Taiz & Zeiger 2006). Neboli, jak uvádí Kalaji et al. (2017) fluorescence chlorofylu *a* je reemisí světelné energie absorbované molekulami chlorofylu *a*. Duca (2015) doplňuje, že vlnová délka fluorescenčního světla je vyšší než vlnová délka absorbovaného světla, protože množství energie je nižší v porovnání s absorbovanou energií. Podobně uvádí Lal (2018), že fluorescenčně emitovaný foton má obecně delší vlnovou délku (nižší energii), než původně absorbovaná vlnová délka, protože část excitační energie byla ztracena jako teplo.

Chlorofyly fluoreskují v oblasti červeného spektra (Taiz & Zeiger 2006). Proto, jak uvádí Lambers et al (2008), může fluorescence být kvantifikována měřením emisí této „hlubší“ červené vlnové délky (okolo 10 nm) během ozáření modrým nebo červeným světlem. Rebeiz (2014) dodává, že ne všechny chlorofylové proteiny jsou schopné fluorescence. Například Chl *b* ve zdravých tylakoidních membránách nefluoreskuje, protože přenáší svou excitační energii na Chl *a*. Tyto nefluoreskující chl-polypeptidy se mohou stát fluorescenčními pouze tehdy, když je narušen jejich strukturní vztah k jiným chl-polypeptidům.

### 3.4.2 Využití fluorescence

Fluorescence chlorofylu *a* během fotosyntézy je měřítkem energie absorbovaných kvant světla, která nebyla použita při fotosyntéze nebo emitována ve formě tepla (Kalaji et al. 2017). Jak uvádí Lal (2018), účinnost fotochemie v jakémkoliv systému může být odhadnuta stanovením kvantového výtěžku fotochemické reakce. Pokud fotosyntetické reakce probíhají plynule, intenzita fluorescence chlorofylu je nízká. V odezvě na jakoukoliv poruchu během fotosyntézy se ale může podstatně zvýšit (Kalaji et al. 2017). Proto, jak uvádí Kalaji et al. (2016) naměřené signály fluorescence chlorofylu a jejich statická analýza mohou být použity k predikci, monitorování a identifikaci stresu v rostlinách. Například Jajoo a Allakhverdiev (2017) uvádí, že různé parametry fluorescence Chl *a* se ukázaly být výbornými ukazateli vysokoteplotního stresu v PSII. Naopak Zegada et al. (2016) píše, že fotosyntetický aparát čiroku je velmi citlivý na stres chladu, a proto silně omezuje jeho vývoj v mírném prostředí. A podle Jansen (2017) se měření fluorescence chlorofylu *a* ukázalo být také vhodnou nedestruktivní metodou pro hodnocení UV ochrany při velkém počtu vzorků.

Kalaji et al. (2017) uvádí, že měření fluorescence chlorofylu je velmi citlivé a odráží změny také v celkovém stavu bioenergie rostliny. Dá se uplatnit ve všech světelných fázích fotosyntézy, jako je fotolýza vody, transport elektronů, tvorba pH gradientu v tylakoidních membránách nebo i syntéza ATP. Lambers et al. (2008) doplňuje, že fluorescence je měřítkem účinnosti elektronového přesunu. Ten se zhoršuje v podmínkách nadměrného ozáření, nedostatečného přísunu CO<sub>2</sub>, nebo je zhoršen stresy, které negativně ovlivňují fotochemické reakce. Studie Guidi et al. (2019) poukazuje na rozdíly v morfologicko-anatomických, fyziologických a biochemických charakteristikách mezi C3 a C4 metabolismem, z hlediska fotoinhibice mezi rostlinnými druhy C3 a C4 za stresových podmínek. Z výsledků studie je zřejmá jednoznačná nadřazenost fotosyntézy C4 nad C3 v případě, kdy se jedná o vysoké světelné podmínky a zvýšenou teplotu. Naopak při vystavení C4 rostlin jiným abiotickým stresorům, jako je sucho a chlad, se C4 druhy ukázaly jako méně konkurenční, právě z důvodu vyšší náchylnosti k fotoinhibici.

### 3.4.3 Terminologie a zjišťované parametry při fluorescenci

Baker a Oxborough (2004) uvádí, že nejpoužívanější fluorescenční parametry vyžadují měření fluorescenčního signálu při  $F_m$  (maximální úroveň fluorescence u listů přizpůsobených temnotě). Většina parametrů také vyžaduje měření  $F_0$  (minimální úroveň fluorescence z listů přizpůsobených temnotě).

Podle Shinkarev (2004) se technika čerpadla a sondy (pump and probe technique), někdy též metoda saturačních pulsů, sestává z měření indukovaného fluorescenčního výtěžku

Chl *a*, krátkými pulsy měřicí sondy udávanými v různých časech po aktivním záblesku. Tato výkonná metoda umožňuje analyzovat čas a amplitudovou modulaci fluorescence Chl *a*. Baker a Oxborough (2004) upřesňují, že nejběžnější metoda používaná pro stanovení probíhá tak, že na zatemnělém listu je při velmi nízkém PPFD určeno  $F_0$ . Zatemnění listu zajistí, že prakticky všechna RC PSII jsou v „otevřeném“ stavu (s oxidací  $Q_A$ ), tedy schopná fotochemie. Harbinson a Rosenqvist (2003), vysvětlují, že když jsou rostliny ve stavu adaptace na tmu, je  $Q_A$  pool téměř kompletně oxidován. V tomto stavu je účinnost fotochemie maximální a nefotochemické zhášení je nulové. Pro zatemněný list je generován  $F_m$  během krátkého pulsu při vysoké PPFD. Tento impuls přechodně pohání velmi vysoký podíl RC PSII do „uzavřeného“ stavu (s redukcí  $Q_A$ ), čímž se snižuje kapacita fotochemie PSII téměř na nulu (Baker & Oxborough 2004). Po osvětlení zářivým zábleskem se  $Q_A$  pool rychle snižuje, protože metabolismus je do značné míry neaktivní, což má za následek pomalý obrat fotosyntetického transportního řetězce elektronů. Metabolismus je ale nutný k obnovení elektronových akceptorů pro transport elektronů (oxiduje ferredoxin) a k rozložení elektrochemického gradientu vytvořeného přes tylakoidní membránu pomocí syntézy ATP (Harbinson & Rosenqvist 2003).

Rozdíl mezi  $F_0$  a  $F_m$  se nazývá variabilní fluorescence ( $F_v$ ). Fluorescenční parametr  $F_v/F_m$  může poskytovat odhad maximální kvantové účinnosti fotochemie PSII (Baker & Oxborough 2004). Guidi et al. (2019) doplňuje, že snížení tohoto parametru svědčí o snížené účinnosti PSII, a tedy fotoinhibici.

#### 3.4.4 De-excitační dráhy excitovaného chlorofylu

Změny v rychlosti konstant, jiné než pro fluorescenci, způsobují snížení nebo zvýšení fluorescence (Harbinson a Rosenqvist 2003).

Podle nich existují dva hlavní účinky:

- Změny v redoxním stavu  $Q_A$  (primární stabilní elektronový akceptor PSII), který určuje možnost de-excitace nebo zhášení fotochemickými reakcemi
- Změny v ne-fotochemické de-excitaci nebo zhášení, světlem indukovaný ochranný mechanismus, který způsobí, že excitovaný chlorofyl se uvolní do základního stavu s produkcí tepla

Nefotochemickým zhášením, jako hlavním procesem regulace dodávání excitační energie do RC, se upravuje průtok excitací do RC PSII na zvládnutelnou úroveň, v závislosti na intenzitě světla a ostatních podmínkách. V důsledku nefotochemického zhášení se velká část excitací v anténním systému způsobená intenzivním osvětlením uhasí přeměnou na teplo. Nefotochemické zhášení se podílí na ochraně fotosyntetického aparátu proti přexcitaci a následným škodám (Taiz & Zeiger 2006).

Nedávná dostupnost přenosných zařízení významně rozšířila potenciální využití technik chlorofylové fluorescence, zejména pro účely fenotypizace a monitorování plodin (Kalaji et al. 2016).



## 4 Metodika

### 4.1 Rostlinný materiál

Pro diplomovou práci byla jako pokusný materiál zvolena rostlina z rodu čirok (*Sorghum*). Čirok obecný (*Sorghum bicolor* L. Moench) navazuje na bakalářskou práci (Lhotská 2017) zaměřenou na testování odolnosti odrůd vůči stresu zasolení. Z výsledků byly vybrány 2 odrůdy zrnového čiroku - Barnards red (BR) a RCAT 016982 (RCAT). Odrůda RCAT byla prací vyhodnocena jako nejlepší. Naopak odrůda BR byla podle zjištěných výsledků označena jako odrůda málo přizpůsobivá ke stresu zasolení. Jako další, nově přidaná, byla zvolena odrůda Ruzrok (RUZ).

#### 4.1.1 Popis testovaných odrůd

Veškeré osivo pro účely diplomové práce bylo získáno z Genové banky VÚRV, v.v.i.

Odrůdy Barnards red (BR) a RCAT 016982 (RCAT) jsou řazené mezi zrnové čiroky. Jejich využití je především pro produkci zrna. V současnosti nejsou registrované ve Státní odrůdové knize.

Odrůda Ruzrok (RUZ) je v současné době již registrovanou odrůdu. Odrůda je charakterizovaná v Databázi odrůd (2019) jako liniová, velmi raná odrůda. Výnosy celkové suché hmoty i výnosy celkové zelené hmoty jsou nízké. Odrůda se vyznačuje svou mimořádnou raností dozrávání. Není vhodná pro krmné ani potravinářské využití, protože obsahuje více než 2 % taninu v sušině zralého zrna. Je určena výhradně pro produkci biomasy. Může být pěstována v systémech konvenčního i ekologického hospodaření (Hermuth et al. 2018).

### 4.2 Vlastní pokus

#### 4.2.1 Klíčení semen

Semena byla po dobu 2 hodin před založením pokusu namočena do destilované vody. Namočení semen čiroku (seed hydropriming) před vysetím zvyšuje za běžných podmínek klíčivost (Shehzad et al. 2012). Poté byla uložena na buničitou vatou do Petriho misek velikosti 12 cm, po max. 25 ks. Semena se nechala klíčit v řízených podmínkách v kultivačním boxu na klíčení semen Memmert ICP500 (Memmert GmbH+Co.KG, Schwabach FRG, Germany). Postup při klíčení semen vycházel z metodiky ISTA (International Seed Testing Association).

#### Kultivační podmínky

Semena jednotlivých odrůd byla rozdělena na 3 skupiny, podle teploty klíčení (viz Tabulka 2).

Kontrolní varianta klíčila při 20 °C. V dalších variantách byla teplota klíčení nastavena na 15 a 17 stupňů Celsia.



Tab. 2: Teploty klíčení jednotlivých variant:

Varianta	Klíčení (°C)
Kontrola	20
17	17
15	15

Semena klíčila bez přístupu světla po dobu 6 dní. Po celou dobu byl v Petriho miskách kontrolován dostatek vody, ale v rámci klíčení nebylo nutné zálivku doplňovat. Startovací zálivka v jedné Petriho misce byla pro všechny odrůdy i varianty shodná – 25 ml.

Vyklíčená semena byla hodnocena v časovém intervalu 3. a 6. dne. Byla spočítána vyklíčená semena a tato hodnota byla přepočtena na procenta vůči celkovému počtu semen použitých v Petriho misce.

#### 4.2.2 Vzcházení a růst

Po vyklíčení byl proveden negativní výběr a vhodně naklíčená semena byla přesazena do plastových nádob o rozměrech 11x11x11,5 cm, naplněných homogenizovaným pěstebním zahradnickým substrátem (Rašelina a. s., ČR; pH 5,5 – 6,0, spalitelné látky min. 35 %, částice nad 25 mm max 5 %, celkový obsah N: 80 – 120 mg l<sup>-1</sup>, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 50 – 100 mg l<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>O: 100 – 150 mg l<sup>-1</sup>). Semena byla usazena do hloubky přibližně 4 cm. Manipulace byla provedena se zvýšenou opatrností tak, aby nedošlo k porušení hypokotylů ani kořenového systému. Na závěr byla nádoba dostatečně provlhčena tak, aby substrát nasál dostatečné množství vody.

Nádoby s rostlinami byly umístěny v klimatizované komoře Conviron E8 (Conviron, Winnipeg, Canada) a osmotickou jednotkou Aqua Osmotic typ 02 (Tišnov, Česká republika), kde za řízených podmínek rostly, při již shodně nastavených teplotních i světelných podmínkách.

Během růstu byly rostliny pravidelně kontrolovány a zalévána podle potřeby. Jako zálivka byla použita destilovaná voda min. 3x týdně. Během růstu byl průběžně zaznamenáván počet vzešlých rostlin (v procentech). Rostliny nebyly po celou dobu experimentu přihnojovány. Celková doba pěstování rostlin byla 6 týdnů (včetně klíčení).

Podmínky růstu:

Teplota: Teplota v pěstební komoře byla po celou dobu udržována na 20 °C.

Relativní vlhkost vzduchu: Relativní vlhkost vzduchu se pohybovala mezi 65–70 %.

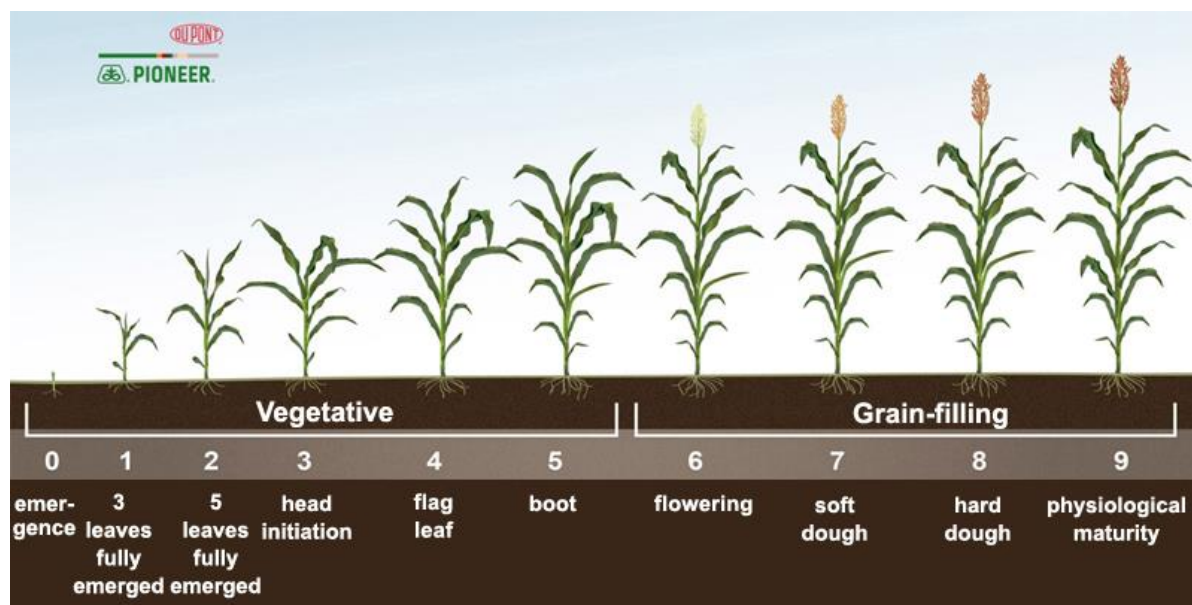
Světelný režim: Nastavení světelného režimu po celých 24 hodin je zobrazeno v Tabulce 3.

Tab. 3: Časové rozvržení světelného režimu podle PPDF

Rozmezí dne (hod)	Fotosyntetická hustota toku fotonů (PPDF) (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
6:00 – 8:00	150
8:00 – 18:00	nepřesahovalo 300
18:00 – 20:00	150
20:00 – 6:00	0

### 4.3 Metody měření

Ve stádiu, kdy většina testovaných rostlin dosáhla druhé vývojové fáze růstu (tj. 3–5 pravých listů), bylo na rostlinách provedeno měření. Vývojové fáze čiroku jsou zobrazeny na Obrázku 7.



Obr. 7: Vývojové fáze čiroku obecného (*Sorghum bicolor* L. Moench) (převzato z DuPont Pioneer 2019)

#### 4.3.1 Počet vzešlých rostlin

Ve fázi 2 byl zjištěn počet rostlin jednotlivých odrůd při různých teplotních variantách a porovnán s počtem semen, která byla do půdy zasazena. Z rozdílu byl zjištěn počet vzešlých rostlin jednotlivých odrůd, ten byl přepočítán na procenta.

#### 4.3.2 Výška rostliny, délka a šířka listu

Pomocí metru byla změřena výška rostliny od kořenového krčku po špičku nejdelšího nataženého listu. Poté byly změřeny délky a šířky jednotlivých listů. Měřeny byly jen zelené části listové plochy, tj. asimilační plocha. Šířka byla měřena v nejširší části listu.

#### 4.3.3 Fluorescence a obsah chlorofylů v listech

Na rostlinách byla pomocí fluorometru měřena fotosyntetická aktivita rostlin. Konkrétně byla zjišťována fluorescence chlorofylu *a* (potenciální fotochemická efektivita elektronového transportu ve fotosystému II ( $F_v/F_m$ )). Rostliny byly měřeny v době, kdy více jak 75 % rostlin bylo ve vývojové fázi 2. Temnostní adaptace listu (pomocí klips) byla provedena na vývojově posledním plně vyvinutém listu.

## Metodika měření fluorescence

Pro zjištění hodnot byl použit přenosný fluorometrem s technologií pulzní modulace ADC:OSI 1 FL (ADC Bio Scientific Ltd., Hoddeson, UK).

Na nejmladší plně vyvinutý list měřené rostliny byl připevněn měřicí klips (v poloze zatemněno). Takto zatemněné rostliny byly ponechány 20 minut. Poté byl k měřicímu klipsu připojen fluorometr. A po odtemnění klipsu změřeny hodnoty: potenciální fotochemická efektivita elektronového transportu ve fotosystému II ( $F_v/F_m$ ), základní fluorescence ( $F_0$ ), maximální fluorescence ( $F_m$ ) a variabilní fluorescence ( $F_v$ ).

Variabilní fluorescence ( $F_v$ ) byla přístrojem stanovena z hodnot základní fluorescence ( $F_0$ ) a maximální fluorescence ( $F_m$ ) dle následujícího matematického vztahu:  $F_v = F_m - F_0$ .

Měření bylo uskutečněno na celkem 54 rostlinách (minimální počet opakování však byl 3 rostliny z každé odrůdy).

Na listech čiroku byl ve stejné růstové fázi, jako probíhalo měření fluorescence, zjišťován také obsah chlorofylů. Pro měření byl použit chlorofyl metr CCM-200 (Opti-Sciences, Hudson, USA), který získává hodnoty (CCI) nedestruktivní metodou. Měřený list byl vložen mezi přístroj a měřicí hlavu, poté mírně stlačen a změřen. Měření probíhalo v řádu několika sekund.

Pro každou odrůdu bylo provedeno přibližně 10 měření. Celkem bylo měření obsahu chlorofylů v listech provedeno přibližně 30krát.

### 4.3.4 Hmotnost sušiny

Celá nadzemní část rostliny byla při ukončení experimentu (po 6 týdnech), ve vývojové fázi 2 (počet listů 3 až 5), ustřižená v místě kořenového krčku a při 80 °C sušena. Sušina byla poté zvážena s přesností na setiny gramu a přepočtena na 1 rostlinu.

## 4.4 Zaznamenávání a zpracování výsledků

Veškeré naměřené hodnoty byly zaznamenávány pomocí MS Excel, zpracovány ve statistickém programu Statistica 12.0 Cz za využití vícefaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) a následně vyhodnoceny podle vzniklých grafů. Statistická významnost rozdílů mezi testovanými variantami byla hodnocena pomocí Tukeyho (HSD) testu na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

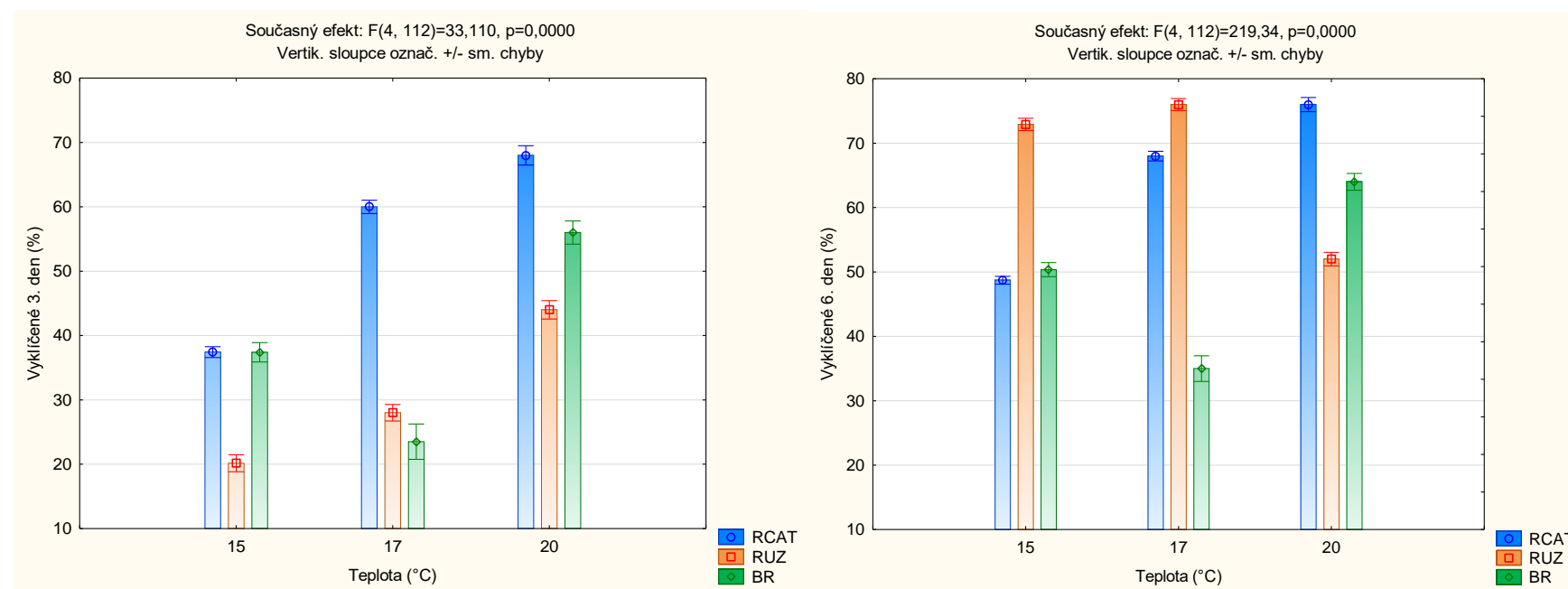
## 4.5 Dokumentace pokusu

Pro dokumentaci pokusu byl použit mobilní telefon značky HTC a digitální fotoaparát Panasonic Lumix. Při úpravě fotografií byl použit program Microsoft Office Picture Manager.

## 5 Výsledky

Při pokusu byly použity celkem tři odrůdy rodu *Sorghum*. Obilky, původně naklíčené v třech rozdílných teplotách (kontrolní varianta při 20 °C, snížená teplota při 15 a 17 °C), byly pěstovány v klimatizované komoře při shodné teplotě 20 °C. V rámci experimentu, bylo na rostlinách číroku stanoveno – počet vyklíčených semen v časovém intervalu 3. a 6. dne, počet vzešlých rostlin, výška rostliny a délka a šířka listu, fluorescence chlorofylu *a* ( $F_v/F_m$ ) a hmotnost sušiny. Získané výsledky byly zpracovány ve statistickém programu za využití vícefaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) do následujících grafů. Během pokusu byly pořízeny fotografie dokumentující skutečný stav porostu (viz Přílohy).

### 5.1 Klíčivost semen 3. a 6. den po zasetí



Obr. 8: Množství vyklíčených semen (v procentech) 3. den a 6. den po zasetí, při testovaných teplotách klíčení (ve °C)

Leg: kontrolní varianta - 20 °C, testované varianty 15 °C, 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

Celková klíčivost semen se u odrůd čiroku pohybovala v intervalu od 35 do 76 procent. Nejnižší klíčivost měla semena odrůdy BR klíčená při 17 °C. Nejvyšší klíčivost vykazovala semena odrůd RUZ a RCAT. Zjištěné výsledky klíčivosti semen jsou zobrazeny na Obrázku 8, vpravo.

3. den klíčení u odrůdy RUZ se se zvyšující se teplotou zvyšoval i počet vyklíčených semen. Při kontrolním 6. dnu klíčení se počet vyklíčených semen u teplot 15 a 17 °C zvýšil o přibližně 50 %, ale u teploty 20 °C byl tento nárůst pouze 8%.

Odrůda RCAT se naopak zvyšoval kontinuálně v obou kontrolních dnech – s prodlužujícím se intervalem klíčení se rovnoměrně zvyšoval i počet vyklíčených semen ve všech teplotních variantách. Počet vyklíčených semen se 6. kontrolní den ve všech třech testovaných variantách shodně zvýšil o přibližně 10 %.

U semen odrůdy BR bylo dosaženo nejvyšší klíčivosti při teplotě klíčení 20 °C. Celková klíčivost těchto semen byla 64 %. Již při 3. kontrolním dnu bylo vyklíčeno 56 % semen. Do 6. kontrolního dne se tedy klíčivost semen zvýšila už jen o pouhých 8 %. Podobný nárůst klíčivosti mezi kontrolními dny se projevil i u semen klíčených při 15 °C. Zde byla celková klíčivost kolem 50 %. Semena klíčená při 17 °C vykazovala mezi kontrolními dny 11,5% nárůst klíčivosti. Celková klíčivost při 17 °C byla pouze 35 %.

Přehled výsledků klíčení 3. a 6. kontrolní den je uveden ve výsledkové tabulce (viz přílohy Tabulka 4 a 5).

## 5.2 Počet vzešlých rostlin

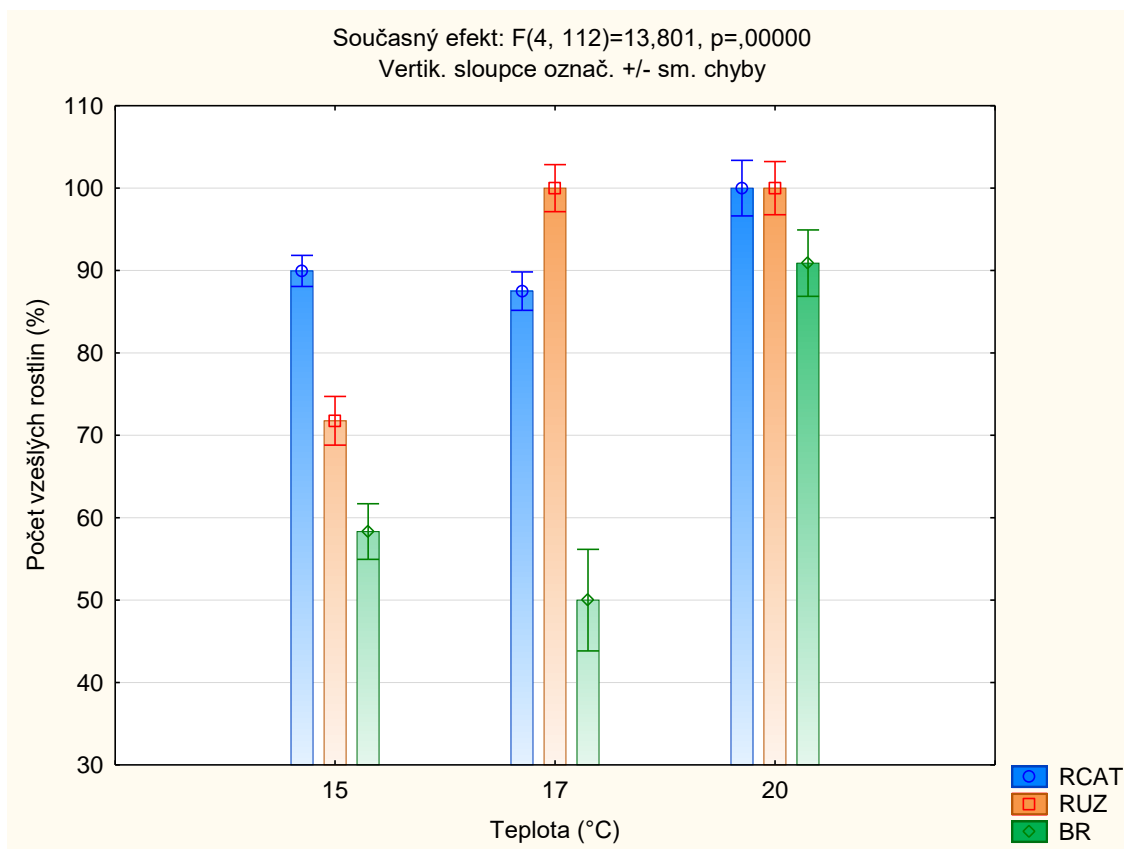
Počet vzešlých rostlin se pohyboval v intervalu 50 až 100 %. Stoprocentní vzešlost rostlin byla zjištěna u odrůd RUZ a RCAT klíčených při 20 °C. Nejnižší počet vzešlých rostlin měla odrůda BR klíčená při testované variantě klíčení 17 °C. Podrobný přehled zjištěných výsledků je uveden na Obrázku 9.

Odrůda RUZ měla 100% vzešlost rostlin ve variantách teploty klíčení 20 a 17 °C. Při teplotní variantě klíčení 15 °C dosahovaly rostliny vzešlosti jen 71,8 %.

U semen odrůdy RCAT byl zjištěn nižší počet vzešlých rostlin, při snížené teplotě. Při teplotě klíčení 17 °C bylo vzešlých 87,5 % rostlin. O necelá 3 % vyšší vzešlost rostlin byla zjištěna při teplotě klíčení 15 °C.

Nejvíce se snížení teploty projevilo na počtu vzešlých rostlin u odrůdy BR. Rostliny měly nižší vzešlost ve srovnání s ostatní odrůdami už při kontrolní variantě (20 °C), zde byla zjištěna vzešlost 90,9 %. Při nižších teplotních variantách potom rostliny nedosáhly ani polovičního počtu vzešlých rostlin. Semena, která klíčila při 15 °C měla vzešlost 58,3 %. Zatímco semena klíčená při teplotě 17 °C dosáhla pouze 50% vzešlosti.

Přehled výsledků počtu vzešlých rostlin je uveden ve výsledkové tabulce (viz přílohy Tabulka 6).



Obr. 9: Průměrná počet vzešlých rostlin (v procentech) v závislosti na testovaných teplotách klíčení (ve °C)

Leg: kontrolní varianta – 20 °C, testované varianty 15 °C a 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

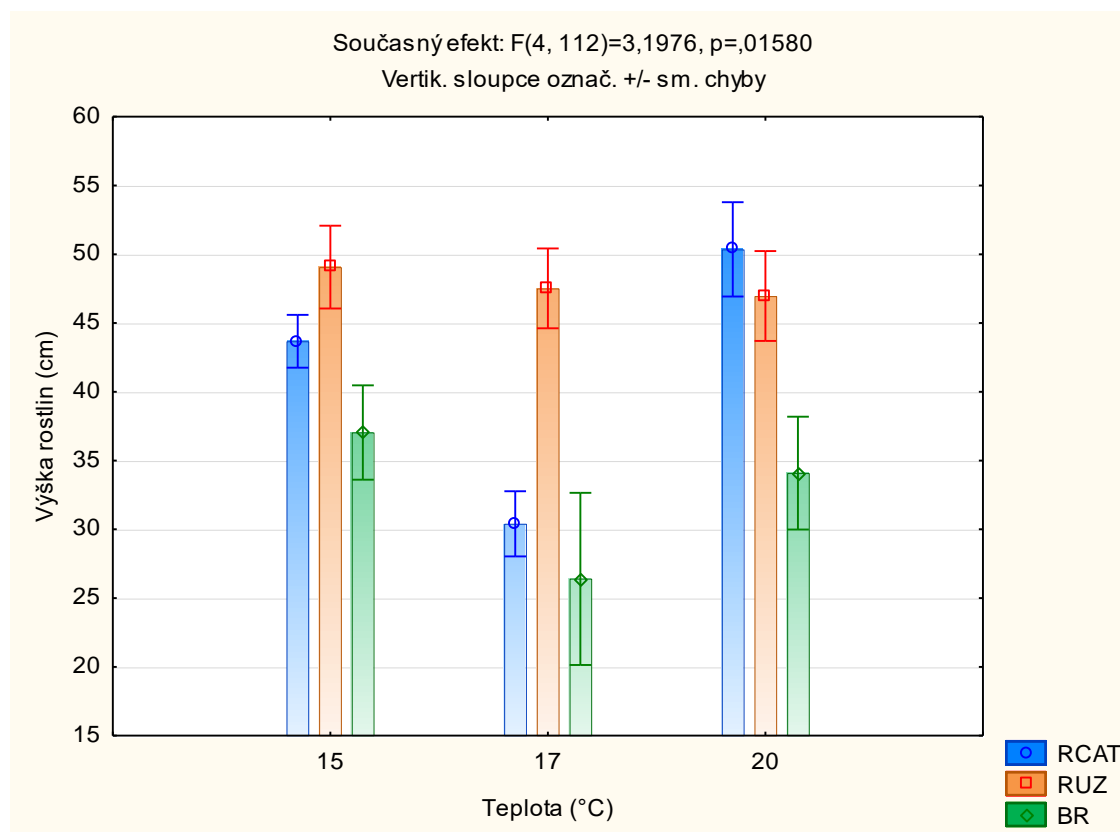
### 5.3 Průměrná výška rostliny

Průměrná výška rostliny se v závislosti na testované odrůdě čiroku pohybovala v intervalu od 26,4 cm do 50,36 cm. Nejvyšší průměrnou výšku rostliny měla rostlina odrůdy RCAT, která klíčila při teplotě 20 °C. Nejnižší průměrná výška rostliny byla zaznamenána u rostliny odrůdy BR při variantě 17 °C. Podrobné zobrazení výsledků je na Obrázku 10.

Průměrná výška rostliny RUZ se snižovala se zvyšující teplotou, při které byla semena klíčena. Při teplotě 20 °C byla průměrná výška rostliny 46,96 cm. Při teplotě 17 °C se průměrná výška rostliny zvýšila o pouhý 0,5 cm. Nejvyšší rostliny byly změřeny u varianty teploty klíčení 15 °C. Průměrná výška rostliny byla 49,1 cm. Rostlina odrůdy RUZ se ve všech třech testovaných teplotách ukázala jako vzrůstná.

U odrůd RCAT a BR byla naměřena nejnižší průměrná výška rostliny při variantě teploty klíčení 17 °C. Průměrná výška rostlin se pohybovala od 26 do 30 cm. Mezi variantami teplot 15 a 20 °C byl zaznamenán následující trend. U rostliny odrůdy RCAT se se zvyšující teplotou klíčení zvyšovala i průměrná výška rostliny. Výškový rozdíl činil 7 cm. Naopak u rostliny odrůdy BR se průměrná výška rostliny se zvyšující teplotou klíčení snižovala. Zde byl výškový rozdíl naměřen přibližně 3 cm.

Přehledné zobrazení výsledků průměrné výšky je uvedeno ve výsledkové tabulce (viz přílohy Tabulka 7).



Obr. 10: Průměrná výška rostliny (v cm) v závislosti na testovaných teplotách klíčení (ve °C)  
 Leg: kontrolní varianta – 20 °C, testované varianty 15 °C a 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

#### 5.4 Průměrná délka listu

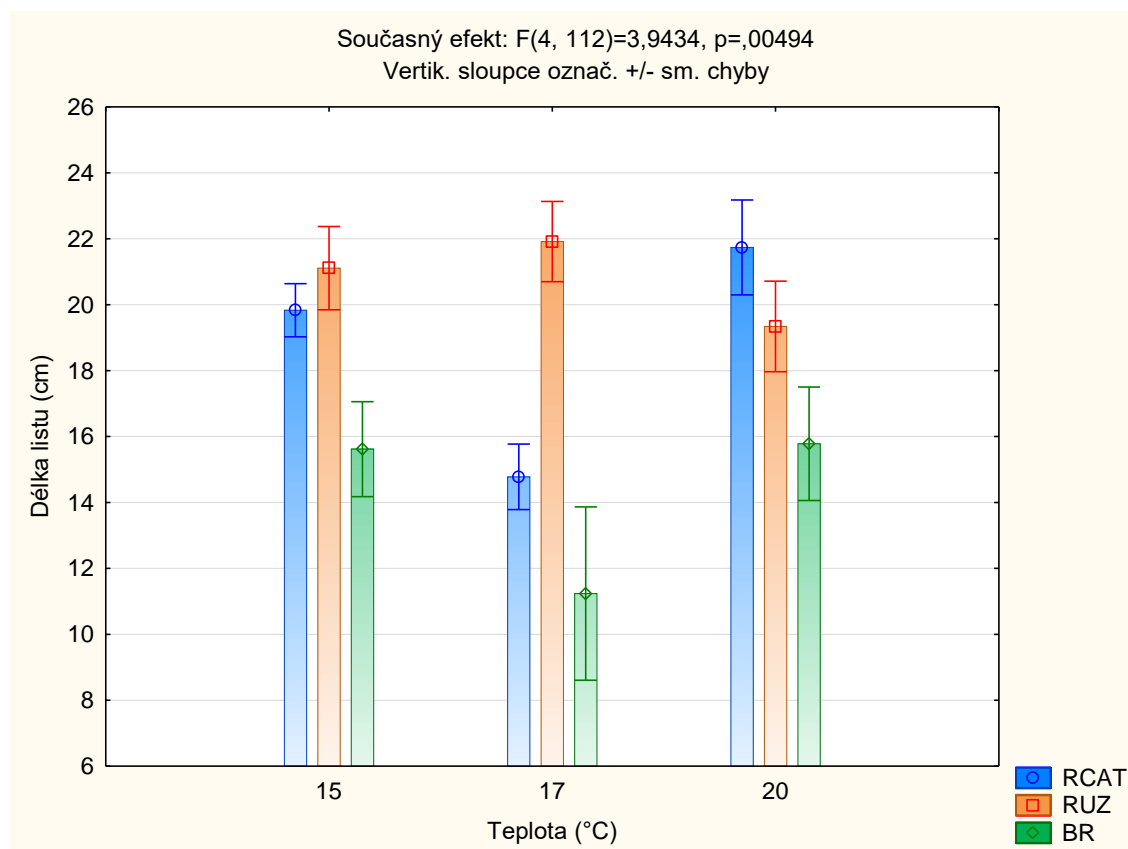
Průměrná délka listu u odrůd čiroku se pohybovala v intervalu od 11,2 cm do 21,9 cm. Nejvyšší průměrná délka listu byla naměřena u rostliny odrůd RUZ klíčené při 17 °C a rostliny RCAT klíčené při teplotě 20 °C. Průměrně nejkratší list měla rostlina odrůdy BR, která byla klíčena při teplotě 17 °C. Přehledné zobrazení zjištěných výsledků je na Obrázku 11.

Rostlina odrůdy RUZ vykazovala při teplotních variantách 15 a 20 °C zvýšení průměrné délky listu v závislosti na snižující se teplotě. Průměrná délka listu rostliny klíčené při teplotě 20 °C byla 19,3 cm. Zatímco průměrný list rostliny klíčené při 15 °C byl dlouhý 21 cm. Při teplotě klíčení 17 °C byla průměrná délka listu ještě o necelý 1 cm delší. Rostlina odrůdy RUZ se ve všech třech testovaných teplotách ukázala ve srovnání s ostatními odrůdami (RCAT a BR) jako vzrůstná.

Naopak u listů rostlin odrůdy RCAT při teplotách klíčení 20 a 15 °C bylo pozorováno zvýšení průměrné délky listu v závislosti na zvyšující se teplotě. Rozdíl mezi průměrnou délkou obou listů činil přibližně 2 cm. Teplotní varianta klíčení 17 °C se tomuto trendu zcela vymykala. Rostliny pěstované při této teplotě dosahovaly průměrné délky listu pouze 14,7 cm.

Celkově nejnižší průměrná délka listu byla změřena u rostlin odrůdy BR. Listy dosahovaly maximální průměrné délky listu necelých 16 cm. Tato průměrná délka listů byla změřena shodně u teplotních variant klíčení 20 a 15 °C. Rostliny klíčené při teplotě 17 °C měly průměrnou délku listu pouhých 11 cm.

Přehledné zobrazení výsledků průměrné délky listu je uvedeno ve výsledkové tabulce (viz přílohy Tabulka 8).



Obr. 11: Průměrná délka listu (v cm) v závislosti na testovaných teplotách klíčení (ve °C)  
Leg: kontrolní varianta – 20 °C, testované varianty 15 °C a 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

### 5.5 Průměrná šířka listu

Průměrná šířka listu u odrůd čiroku se pohybovala od 0,68 do necelých 1,17 cm. Nejvyšší průměrná šířka listu byla zjištěna u rostlin odrůdy RUZ při teplotní variantě 17 °C. Nejnižší průměrnou šířku listu měla rostlina odrůdy BR, které byly klíčené také při 17 °C. Zjištěné výsledky jsou zobrazeny na Obrázku 12.

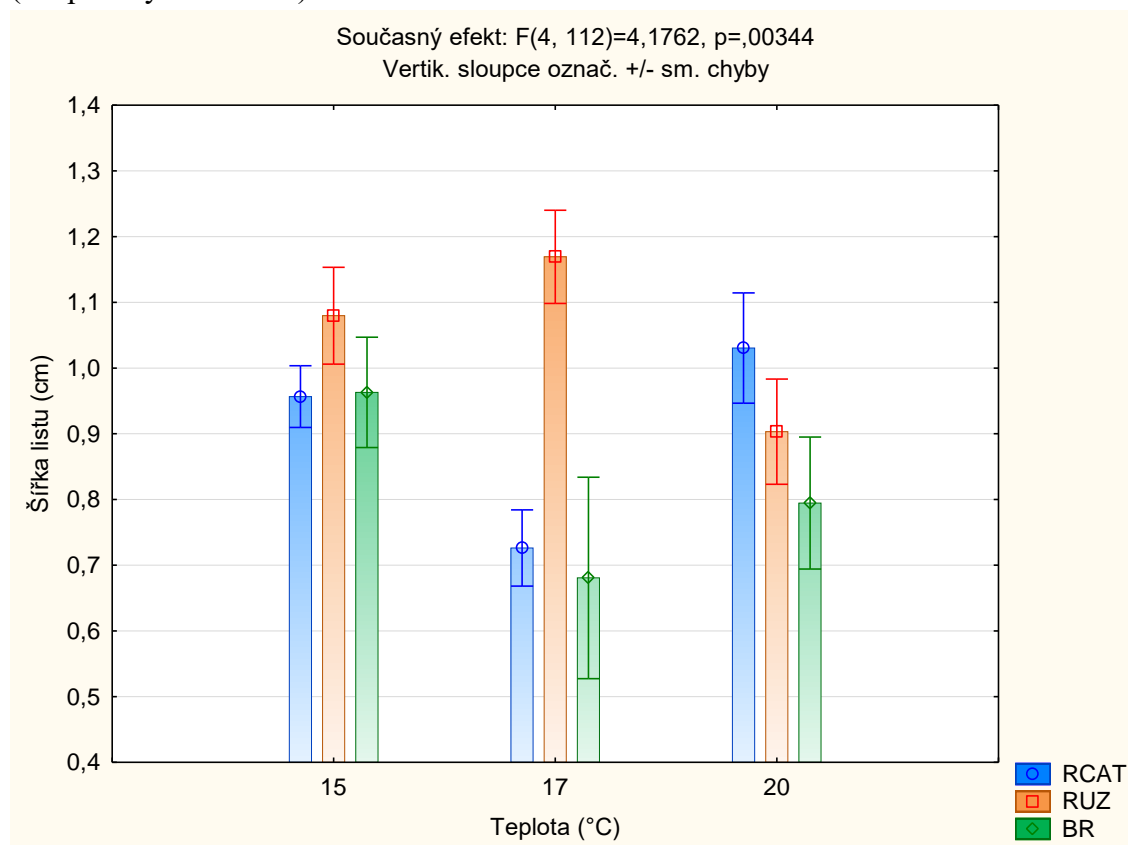
Rostlina odrůdy RUZ vykazovala při teplotních variantách 15 a 20 °C zvýšení průměrné šířky listu v závislosti na snižující se teplotě. Průměrná šířka listu rostliny, která byla klíčena při teplotě 20 °C, činila 0,9 cm. Zatímco průměrná šířka listu rostliny klíčené při 15 °C byla 1,08 cm. Při teplotě klíčení 17 °C byla průměrná šířka listu vyšší. Průměrná šířka listu činila necelých 1,17 cm.



Stejný trend jako při odrůdě RUZ vykazovaly také rostliny odrůdy BR. Rozdíl byl zjištěn u varianty teploty klíčení 17 °C. Zde byla zjištěna nejnižší průměrná šířka listu, ta nedosahovala ani 0,7 cm.

Opakný trend byl patrný u listů rostlin odrůdy RCAT při teplotách klíčení 20 a 15 °C. Bylo pozorováno zvýšení průměrné šířky listu v závislosti na zvyšující se teplotě. Rozdíl mezi variantami teplot klíčení činil 0,07 cm. Teplotní varianta klíčení 17 °C se tomuto trendu opět zcela vymykala. Rostliny pěstované při této teplotě dosahovaly průměrné šířky listu přibližně 0,7 cm.

Přehledné zobrazení výsledků průměrné délky listu je uvedeno ve výsledkové tabulce (viz přílohy Tabulka 9).



Obr. 12: Průměrná šířka listu (v cm) v závislosti na testovaných teplotách klíčení (ve °C)  
Leg: kontrolní varianta – 20 °C, testované varianty 15 °C a 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

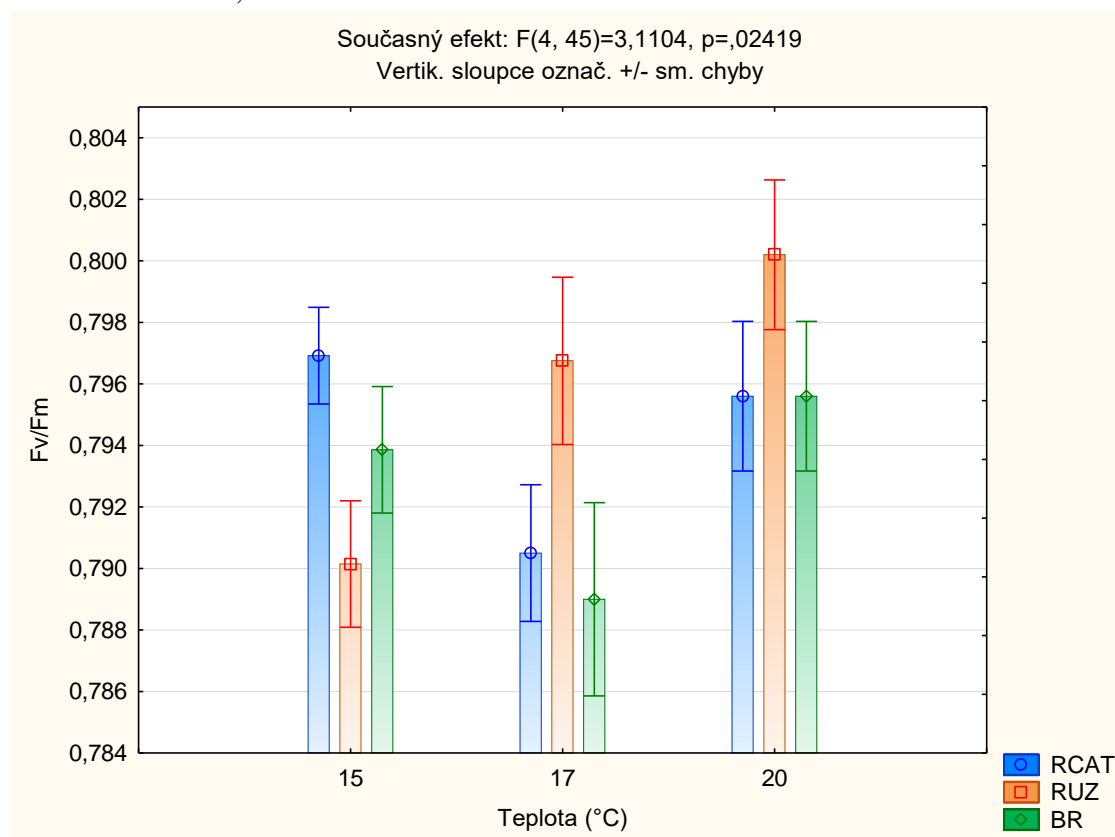
## 5.6 Fluorescence ( $F_v/F_m$ )

Interval při zjištěných hodnotách fluorescence se pohyboval od 0,789 do 0,800. Nejvyšší hodnoty fluorescence byly naměřené u rostlin odrůdy RUZ klíčených při teplotě 20 °C. Nejnižší zjištěné hodnoty fluorescence měly rostliny odrůdy BR klíčené při 17 °C. Zjištěné hodnoty byly znázorněny do grafů viz Obrázek 13.

Mezi naměřenými hodnotami fluorescence v závislosti na teplotě nebyl mezi jednotlivými odrůdami zjištěn žádný statistický významný rozdíl (viz přílohy Tabulka 10).

Fluorescence změřená na rostlinách odrůdy RUZ vykazovala kontinuální nárůst se zvyšující se teplotou klíčení ve všech třech testovaných teplotách. Rozdíl mezi nejvyšší a nejnižší naměřenou hodnotou fluorescence činil 0,01.

Při teplotě klíčení 20 °C byla zjištěna shodná hodnota fluorescence u rostlin odrůd RCAT a BR. Hodnota fluorescence byla necelých 0,796. U těchto dvou odrůd byl také pozorován stejný trend při teplotních variantách klíčení 15 a 17 °C, kdy se v závislosti na zvyšující se teplotě klíčení, snižovala hodnota fluorescence. Nejvyšší hodnoty fluorescence dosahovala rostlina odrůdy RCAT, která klíčila při teplotě 15 °C. Zde byla naměřena hodnota fluorescence 0,797. Zatímco u odrůdy rostlin odrůdy BR byla při stejné teplotě naměřena hodnota fluorescence pouze 0,794. Pokles hodnoty fluorescence u rostlin odrůdy RCAT klíčených při teplotě 17 °C byl přibližně 1%. U rostlin odrůdy BR při stejné teplotě poklesla hodnota fluorescence na 0,789.



Obr. 13: Závislost fluorescence vyjádřené hodnotou  $F_v/F_m$  na teplotě klíčení (ve °C)

Leg: kontrolní varianta – 20 °C, testované varianty 15 °C a 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

## 5.7 Obsah chlorofylů

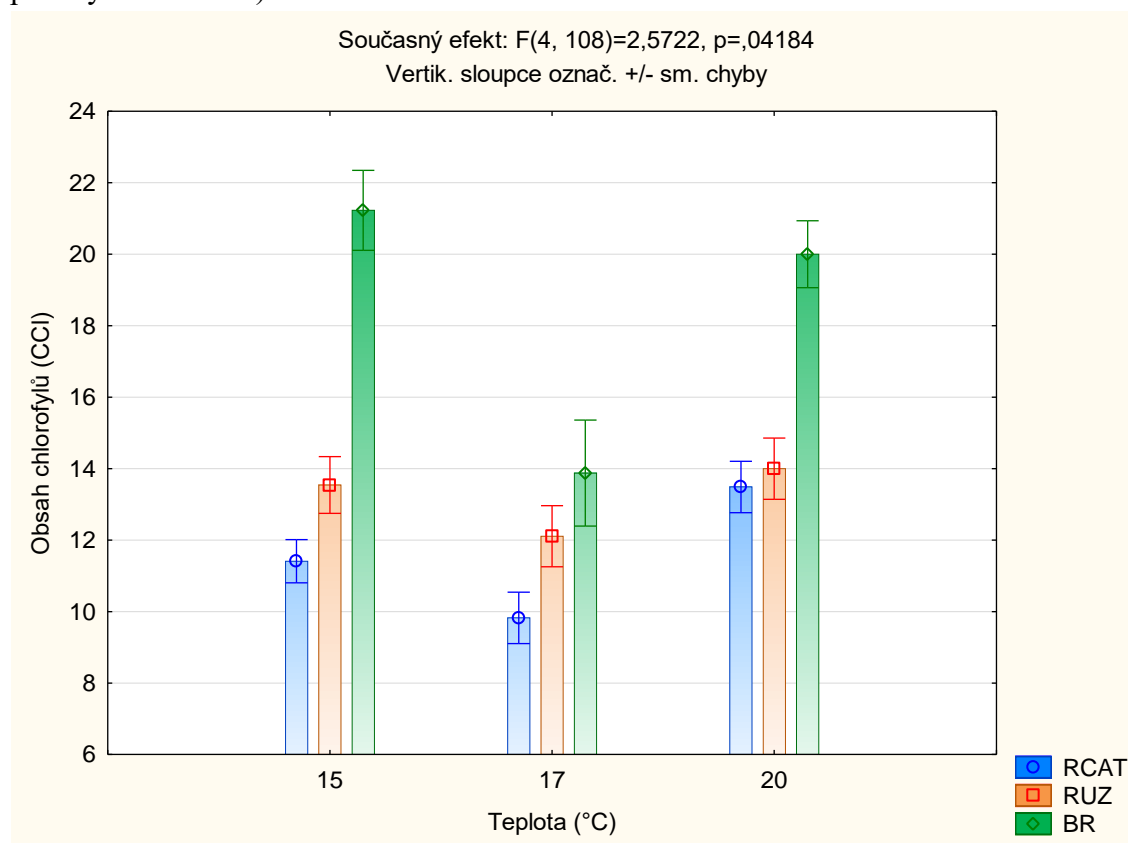
Naměřené průměrné obsahy chlorofylů v listu testovaných rostlin se pohybovaly v intervalu od 9,82 do 21,2. Nejvyšší hodnoty měla odrůda BR při teplotě klíčení 15 °C. Nejnižší hodnoty byly zjištěny u teplotní varianty 17 °C u listů odrůdy RCAT. Obsah chlorofylů je uveden na Obrázku 14.

Průměrné hodnoty obsahu chlorofylů v listech rostliny odrůdy RUZ vykazovaly stejný průběh, kdy se se zvyšující teplotou zvyšovala průměrná hodnota. Hodnoty CCl dosahovaly při testovaných variantách teplot klíčení 20 a 15 °C kolem 14. Tomuto uvedenému trendu, se ale opět vymykala semena klíčená při teplotách 17 °C. Zde byla zjištěna hodnota nižší než v předchozích dvou testovaných variantách teplot.

Odrůda RCAT vykazovala při teplotních variantách klíčení 20 a 15 °C stejný trend jako odrůda RUZ. Tedy se zvyšují se teplotou se zvyšoval i průměrný obsah chlorofylů v listech. U teplotní varianty 15 °C byla naměřena hodnota CCl 11,41 zatímco u kontrolní testované teploty (20 °C) dokonce 13,49. I při této variantě nejnižších hodnot CCl dosahovala teplotní varianta 17 °C, která tento trend nedodržovala. Hodnota RCAT klíčené při 17 °C byla 9,82.

Naopak protichůdný trend vykazovala odrůda BR v teplotních variantách klíčení 20 a 15 °C, kdy se zvyšující se teplotou klesal průměrný obsah chlorofylů v listech. Klesající trend nebyla až tak výrazný. Při teplotě klíčení 15 °C byla zjištěna hodnota CCl 21,23. Zatímco při teplotě klíčení 20 °C byl průměrný obsah chlorofylů jen 20,0. Teplotní varianta 17 °C uvedené závislosti zcela vymykala. Hodnota CCl zjištěná v tomto případě dosahovala pouze 13,88.

Přehled naměřených výsledků obsahu chlorofylů je uveden ve výsledkové tabulce (viz přílohy Tabulka 11).



Obr. 14: Závislost průměrného obsahu chlorofylů v listech (CCI) na testovaných teplotách klíčení (ve °C)

Leg: kontrolní varianta – 20 °C, testované varianty 15 °C a 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

## 5.8 Průměrná hmotnost sušiny

Průměrná hmotnost sušiny jedné rostliny u všech odrůd čiroku se pohybovala v intervalu od 0,05 do 0,69 g. Nejvyšší průměrnou hmotnost sušiny měly rostliny odrůdy RCAT klíčené při teplotě 20 °C. Nejnižší průměrná hmotnost sušiny byla zaznamenána u rostlin odrůdy BR, které byly klíčené při teplotě 17 °C. Průměrná hmotnost sušiny byla znázorněná grafem (viz Obrázek 15).

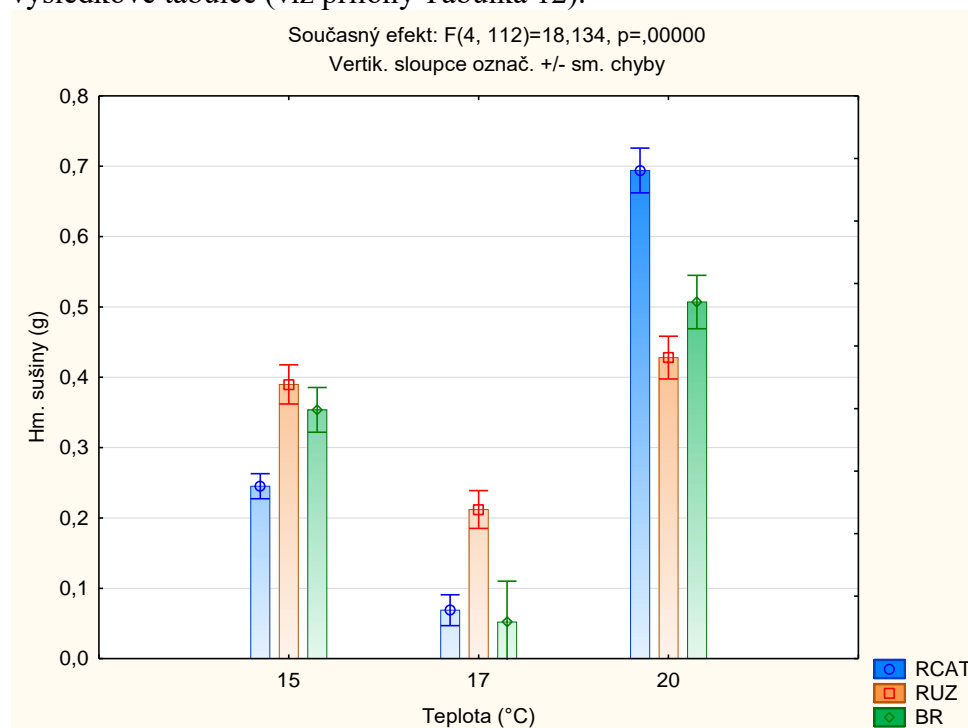
Všechny tři testované odrůdy vykazovaly kontinuální nárůst hmotnosti sušiny se zvyšující se teplotou klíčení v testovaných variantách teploty klíčení 15 a 20 °C. Teplota klíčení 17 °C měla celkově nejnižší průměrnou hmotnost sušiny.

Při kontrolní variantě (20 °C) dosahovala nejvyšší průměrné hmotnosti sušiny odrůda RCAT. Průměrná hmotnost sušiny odrůdy RCAT byla 0,69 g. Při variantě klíčení 15 °C se hmotnost sušiny u rostlin stejné odrůdy pohybovala kolem 0,25 g. Při teplotě klíčení 17 °C zde byla změřena průměrná hmotnost sušiny pouze necelých 0,07 g.

Hmotnost sušiny rostliny odrůdy RUZ byla při teplotách klíčení 15 a 20 °C velmi podobná, pohybovala se kolem 0,4 g. U varianty teploty klíčení 17 °C byla zjištěná hodnota hmotnosti sušiny poloviční.

Odrůda BR měla průměrnou hmotnost sušiny jedné rostliny klíčené při teplotě 20 °C 0,51 g. Pokles hmotnosti sušiny rostlin stejné odrůdy klíčené při 15 °C byl o 0,156 g. Při variantě teploty klíčení 17 °C dosahovala zjištěná hodnota hmotnosti sušiny 0,05 g.

Přehled výsledků průměrné hmotnosti sušiny přepočítané na jednu rostlinu je uveden ve výsledkové tabulce (viz přílohy Tabulka 12).



Obr. 15: Průměrná hmotnost sušiny (v g) v závislosti na testovaných teplotách klíčení (ve °C) přepočtená na jednu rostlinu

Leg: kontrolní varianta – 20 °C, testované varianty 15 °C a 17 °C, RCAT - odrůda RCAT 016982, RUZ – odrůda Ruzrok, BR - odrůda Barnards red

## 5.9 Srovnání jednotlivých odrůd podle všech stanovených hodnot

### 5.9.1 Odrůda Ruzrok (RUZ)

Většina semen odrůdy RUZ při kontrolní teplotě byla vyklíčena již při 3. kontrolním dnu. Zcela opačné schéma klíčení bylo zaznamenáno u nižších testovaných teplot. U teplot klíčení 17 a 15 °C vyklíčena semena mezi 3. a 6. kontrolním dnem ztrojnásobila svůj počet.

Počet vzešlých rostlin odrůdy RUZ při teplotní variantě 15 °C se pohyboval ve středu ve srovnání s ostatními testovanými odrůdami. V ostatních dvou teplotách klíčení měla odrůda RUZ vzešlost rostlin 100 %.

Při teplotách klíčení 15 a 17 °C vynikaly rostliny této odrůdy také svojí průměrnou výškou rostliny, délkou a šířkou listu. Při kontrolní teplotě se však hodnoty klíčivosti ve všech třech zmíněných znacích pohybovaly mezi hodnotami ostatních testovaných odrůd.

Při měření fluorescence chlorofylu *a* vykazovala tato odrůda kontinuální nárůst hodnot fluorescence se zvyšující se teplotou. Při doplňkovém měření průměrného obsahu chlorofylů byly průměrné hodnoty chlorofylů ve všech třech testovaných odrůdách vyšší než hodnoty naměřené u odrůdy RCAT, a naopak nižší než hodnoty odrůdy BR.

Nejvyšší průměrnou hmotnost sušiny měla tato odrůda při teplotách klíčení 15 a 17 °C. Přičemž při variantě 17 °C byla průměrná hmotnost dvakrát vyšší, oproti ostatním testovaným odrůdám. Naopak při testované teplotě 20 °C dosahovala pouze 60 % nejvyšší zjištěné hmotnosti sušiny.

### 5.9.2 Odrůda Barnards Red (BR)

Celková hodnota klíčivosti semen odrůdy BR při kontrolní teplotě se pohybovala mezi ostatními testovanými odrůdami. Při testované teplotě 17 °C měla semena této odrůdy výrazně horší klíčivost ve srovnání s ostatními odrůdami. Při 15 °C byla srovnatelná s odrůdou RCAT. Ve všech teplotních variantách vyklíčila většina semen již do 3. kontrolního dne. V 6. kontrolním dni se klíčivost už moc nenavýšila.

Snížení teploty při klíčení se výrazně projevilo na počtu vzešlých rostlin u odrůdy BR. Rostliny této odrůdy měly v obou snížených teplotách klíčení (15 a 17 °C) výrazně nižší vzešlost. Semena měla nižší počet vzešlých rostlin i v kontrolní variantě (20 °C).

Odrůda BR vykazovala ve všech testovaných variantách teplot nejnižší průměrnou výšku rostliny a nejnižší průměrnou délku listu ve srovnání s ostatními odrůdami.

Při teplotě 20 a 17 °C byla zjištěna také nejnižší průměrná šířka listu v porovnání s ostatními odrůdami. Při teplotě klíčení 15 °C měla průměrnou šířku listů srovnatelnou s odrůdou RCAT.

Hodnoty fluorescence se v porovnání s ostatními odrůdami v závislosti na teplotě klíčení lišily. Při kontrolní teplotě klíčení měla odrůda BR výsledky srovnatelné s odrůdou RCAT. Při 17 °C měla ze všech odrůd nejnižší hodnoty fluorescence. A při 15 °C se pohybovala mezi ostatními odrůdami. Při doplňkovém měření chlorofylů byly rozdíly také zjevné. Hodnoty průměrného obsahu chlorofylů naměřené na rostlinách klíčených při 15 a 20 °C velmi výrazně převyšovaly hodnoty ostatních dvou testovaných odrůd. V případě teploty 20 °C bylo zjištěno 30% převýšení nad hodnotami odrůdy RUZ. Při teplotní variantě 15 °C bylo zjištěno dokonce

o 36 % vyšší obsah chlorofylů, než měla odrůda RUZ. Při teplotní variantě klíčení 17 °C takto patrné převýšení nebylo. Na rostlinách bylo zjištěno pouze o přibližně 12 % vyšší obsah chlorofylů, ve srovnání s odrůdou RUZ.

Hodnoty hmotnosti sušiny se pohybovaly mezi ostatními odrůdami při teplotách 20 a 15 °C. Nejnížší hmotnost v porovnání s ostatními odrůdami, dosahovala tato odrůda při teplotě klíčení 17 °C. Rozdíly mezi reakcí na jednotlivé testované teploty klíčení byly výrazné.

### **5.9.3 Odrůda RCAT 016982 (RCAT)**

Ve 3. kontrolním dni dosahovala semena odrůdy RCAT nejvyšší klíčivosti ve všech třech testovaných teplotách. 6. kontrolní den měla semena nejvyšší klíčivost už pouze u varianty teploty klíčení 20 °C. Celkovou nejnížší klíčivost v 6. dni měla semena, která klíčila při teplotě 15 °C.

Semena odrůdy RCAT klíčená při teplotě 15 °C měla ve srovnání s ostatními odrůdami vyšší počet vzešlých rostlin. Při teplotě klíčení 17 °C se ve srovnání pohybovala mezi odrůdami RUZ a BR. Při kontrolní variantě (20 °C) semena dosáhla 100 % vzešlosti rostlin.

Při kontrolní variantě dosahovala odrůda RCAT nejvyšší průměrné výšky rostliny. Při ostatních teplotních variantách se pohybovala ve středu mezi ostatními odrůdami. Podobné schéma vykazovala i při hodnotách průměrné délky listu.

Průměrná šířka listu byla srovnatelná s odrůdou BR při teplotách klíčení 15 a 17 °C. Při teplotě 20 °C. měla rostlina odrůdy RCAT opět nejvyšší hodnoty v porovnání s ostatními odrůdami.

Nejvyšší hodnoty fluorescence v porovnání s ostatními odrůdami dosahovala tato odrůda při teplotě klíčení 15 °C. Při ostatních teplotních variantách byla srovnatelná nebo horší než ostatní testované odrůdy. Při doplňkovém měření hodnot průměrného obsahu chlorofylů v listech rostliny dosahovala odrůda RCAT ve srovnání s ostatními dvěma odrůdami nejnižších hodnot.

Prokazatelně nejvyšší hmotnost sušiny vykazovala tato odrůda při kontrolní teplotě klíčení. Naopak při teplotě 15 °C měla hodnoty hmotnosti sušiny nejnižší v porovnání s jinými testovanými odrůdami. Při teplotě 17 °C byla srovnatelná s odrůdou BR.

## 6 Diskuze

Poškození chladem je jedním z nejzávažnějších abiotických stresových faktorů, které omezují růst a produktivitu rostlin po celém světě (Ramakrishna & Ravishankar 2013). Studie Lobell & Gourджи (2012) zabývající se vývojem klima do budoucnosti, upozorňuje, že citlivost výnosů bude v budoucnu částečně záviset na samotných plodinách. A to včetně genetických zlepšení, která povedou ke snížení citlivosti na teplotu nebo třeba ke zlepšení reakce na CO<sub>2</sub>. Dalším důležitým faktorem výnosu, jak uvádí autoři, budou i nadále adaptivní změny v řízení (managementu) ze strany zemědělců například při výběru plodiny a postupu, jak ji budou na konkrétním pozemku pěstovat.

Čirok se řadí mezi teplomilné obilniny, tedy stejně jako ostatní teplomilné rostliny vykazuje vyšší toleranci na teplo než většina ostatních plodin. Naopak má nižší toleranci vůči podmínkám pěstování za chladu (Rooney 2004). Filippou et al. (2013) uvádí, že jedním z hlavních posklizňových problémů u tropických a subtropických komodit je jejich citlivost na nízkou teplotu, která často vede k chladovým poškozením.

Zvýšení rozsahu investic do šlechtění a následné zlepšení plodin, a tedy i zvýšení důrazu těchto investic na globální změny faktorů, mohou pomoci v udržení růstu výnosů v příštích několika desetiletích (Lobell & Gourджи 2012).

Vzhledem k uvedeným myšlenkám byl pokus zaměřen na sledování působení nízké teploty na rostliny čiroku zasažené chladem ve fázi klíčení. Předpokladem je, že výsledky získané tímto pozorováním by mohly být prospěšné pro programy zabývající se šlechtěním čiroku vůči tomuto typu stresu.

Pro pokus byly zvoleny teploty klíčení 15 a 17 °C. Jako kontrolní varianta byla použita teplota klíčení 20 °C. Reakce na nízkou teplotu byly zkoumány na třech vybraných odrůdách čiroku (RUZ, RCAT a BR). Rostliny byly pěstovány v řízených podmínkách, aby se vyloučil vliv vnějšího prostředí. Během pokusu byly rostliny dostatečně zavlažovány a nebyly přihnojovány. Pěstováním byly získány tyto charakteristiky růstu: klíčivost a vzcháživost semen, průměrná délka rostliny, průměrná délka a šířka listu, průměrná hmotnost sušiny nadzemní části. Na rostlinách byl před ukončením pokusu změřen obsah chlorofylů v listech a fluorescence chlorofylu *a*.

### 6.1 Počet vyklíčených semen

V původních oblastech pěstování, čirok vyžaduje teploty klíčení až 21,11 °C (Gerik et al. 2003). Podle Hermuth et al. (2018) by minimální teplota pro klíčení v našich zeměpisných podmínkách měla být 12–15 °C. Při této teplotě by pak semena měla vyklíčit za 10 až 14 dní. Uvádí, že plodina je v době klíčení a vzcházení zvláště citlivá vůči nízkým teplotám. Hermuth et al. (2012) doplňuje, že největšími nároky na teplotou se vyznačují zrnové čiroky. To potvrzuje studie Bekele et al. (2014) kde byl zrnový čirok prokazatelně citlivější na vzcházení za chladu (13 °C) než čirok cukrový. To také potvrzují výsledky u odrůd RCAT a BR, které jsou řazeny mezi zrnové čiroky – jejich reakce na snížené teploty při klíčení je výraznější oproti odrůdě RUZ pěstované na biomasu.

Podle Gerik et al. (2003) může klíčení nastat i při teplotách kolem 10 °C, vzházení je ale potom opožděné. Hermuth et al. (2012) podobně uvádí, že obilky v růstové fázi 0 (klíčení) klíčí za 3 až 10 dní po výsevu v závislosti na teplotě, vlhkosti a hloubce výsevu. V pokusu byla jako nejnižší zvolena teplota 15 °C. Výsledky ze 3. dne měření naznačují, že snížená teplota má vliv na počet vyklíčených semen. Ve všech testovaných variantách i odrůdách došlo při snížené teplotě klíčení, ke snížení počtu vyklíčených semen oproti kontrole (20 °C).

Ve výsledcích studie Andrade et al. (2018) byl čirok označen jako plodina, u které délka trvání klíčení a také nástup samotného klíčení závisí na teplotě. Se snižující se teplotou se oddaluje nástup klíčení, podobně jako u všech testovaných odrůd, kdy se zvyšujícím se časem vyklíčilo i za snížené teploty více semen (porovnání výsledků 3. a 6. dne klíčení). S tímto tvrzením souhlasí i Bekele et al. (2014), z jejich výsledků lze vypožorovat, že počet vyklíčených semen klesá se snižující se teplotou, zatímco doba klíčení se prodlužuje. V jejich studii vyklíčilo 83,1 % semen zrnového čiroku při teplotě klíčení 13 °C.

Nejzajímavěji se v pokusu chovala odrůda RUZ. Odrůda se ve 3. kontrolním dni projevovala podle naznačeného trendu, tedy že se stoupající teplotou stoupá počet vyklíčených semen. Ovšem 6. kontrolní den se při testovaných teplotách (15 a 17 °C) tento trend zcela porušil. Odrůdy na zasažení sníženou teplotou při klíčení, reagovaly ztrojnásobením počtu naklíčených semen. Je možné se domnívat, že semena na tuto teplotu reagovala aklimací a tato odrůda potvrzuje výsledky Bekele et al. (2014), kdy jiné, než zrnové čiroky nejsou na nízké teploty při klíčení tak citlivé.

Protože je čirok botanicky i fyziologicky velmi podobný kukuřici, pro porovnání je zde uveden pokus Silva-Neta et al. (2015) provedený na kukuřici. V pokusu klíčila semena kukuřice při 15 °C. Klíčivost semen se pohybovala mezi 96 a 100 % v závislosti na použité linii. Při 20 °C potom byla 99–100% u všech použitých linií. Tuto zvýšenou toleranci k nízkým teplotám mohla způsobit lepší genetická výbava semene. Z uvedených hodnot je možné konstatovat, že šlechtění kukuřice jako plodiny je již mnohem dál ve srovnání s plodinou čirok.

## **6.2 Počet vzešlých rostlin, výška rostliny, délka a šířka listu**

Autoři metodiky pro pěstování odrůdy Ruzrok upozorňují, že dostatečně vysoké teploty (12–15 °C) jsou velmi důležité také při tvorbě prvních listů (Hermuth et al. 2018). Hermuth et al. (2012) upozorňuje, že růstová fáze 1 - objevení prvních listů (10 až 14 dní po vzházení), je závislá na teplotě. To dokazují i výsledky porovnávaného pokusu, na hodnotách vzešlosti (viz Obrázek 9). Při kontrolní variantě (teplota klíčení 20 °C) byl počet vzešlých rostlin u všech tří odrůd vyšší, než u testovaných teplot (15 a 17 °C). Pouze odrůda RUZ měla 100% vzešlost i při teplotní variantě klíčení 17 °C. Výzkum Yu et al. (2004) dosáhl při teplotě pěstování 15 °C vzešlosti 72,74 %. Ze zjištěných výsledků měly srovnatelné hodnoty při stejné teplotě klíčení odrůdy RUZ (71,8 %) a RCAT (89,9 %).

Fiedler et al. (2014) uvádí, že snížení růstu u druhů C4 rostlin, jako je čirok a kukuřice (*Zea mays*) lze vysvětlit citlivostí fotosyntetického aparátu na nízkou teplotu. Podle Yu a Tuinstra (2001) čirok vykazuje větší citlivost na nízké teploty, přičemž výrazné snížení růstu lze pozorovat, když jsou teploty vzduchu nebo půdy nižší než 15 °C. S tímto tvrzením jsou



výsledky získané pokusem zcela v rozporu. Vypěstované rostliny zasažené při klíčení teplotou 15 °C nebyly nižší ve srovnání s kontrolní variantou, naopak ve dvou testovaných odrůdách se prokázalo dokonce mírné zvýšení průměrné délky rostlin.

Také studie Yu et al. (2004) hodnotila průměrnou výšku rostliny (po 30 dnech růstu) při teplotě pěstování 15 °C. Rostliny dosahovaly průměrné výšky 12,56 cm. V porovnávaném pokusu při stejných podmínkách klíčení dosáhly rostliny průměrné výšky 37–49 cm (v závislosti na testované odrůdě). Je zde zřejmý rozdíl, který byl v testování pravděpodobně způsoben přesunutím pěstovaných rostlin po vyklíčení v chladu do lepších teplotních podmínek růstu (20 °C). Z uvedeného je možné konstatovat, že vystavení semen nízké teplotě pouze na začátku růstu nemělo na rostliny tak velký vliv jako na dlouhodobý růst při nižší teplotě.

Peacock (1982) uvádí závislost prodlužování listů na teplotě. Z jeho výsledků vychází závěr, že nejvyšší rychlosti růstu listy dosahují až při teplotě 35 °C. Publikuje, že rychlost růstu listu kolem teploty 30 °C je přibližně 4 mm hod<sup>-1</sup>. Při teplotě 20 °C byla zjištěná rychlost růstu listu o 75 % nižší. Tuto závislost můžeme najít i u výsledků porovnávaného pokusu. Rostliny odrůdy RCAT, které byly klíčeny při nižších teplotách než kontrolní varianta, dorůstaly kratších listů. Zajímavostí je, že listy rostliny klíčené při 15 °C měly o 25 procent delší listy, než listy rostliny klíčené při 17 °C. Při srovnání hodnot šířek listů jsou opět patrné překvapivé výsledky. Rostliny odrůd RUZ a BR klíčené při 15 °C dosahovaly širších listů než kontrolní varianta.

Uvedenou závislost zcela vyvrací v pokusu pěstovaná rostlina odrůdy RUZ. Ta reagovala na snížení teploty naopak prodloužením listu a výrazným rozšířením listu v obou testovaných variantách klíčení (15 a 17 °C).

Je možné se domnívat, že rostliny na vystavení chladu a znemožnění efektivního prodloužení listu, reagovaly jeho rozšířením, proto aby v pozdějších vývojových stádiích mohly přijímat dostatečné množství světelného záření, a byly tak i nadále konkurenceschopné. Uvedená teorie byla potvrzena výsledky získanými měřeními fluorescence chlorofylu *a*.

### **6.3 Fotosyntéza, fluorescence chlorofylu *a* a obsah chlorofylů**

Podle Zhang & Scheller (2004) jsou světelné fáze fotosyntézy při ochlazení rostlin relativně stabilní. Zatímco u temnostní fáze může dojít ke snížení vlivem nedostatečné aktivity enzymů, které jsou citlivé na nízké teploty. To potom vede k inhibici PSI a někdy i PSII.

V pokusu provedeném studií Ortiz et al. (2017) chladový stres výrazně snížil rychlost fotosyntetického příjmu CO<sub>2</sub> u rostlin čiroku. Rostliny byly pěstovány za optimálních podmínek 28 °C/24 °C (den/noc). Na 7 dní v průběhu růstu byly vystaveny snížení teploty na 15 °C. Snížení teploty se výrazně projevilo poklesem hodnot fluorescence ( $F_v/F_m$ ). V porovnávaném pokusu se objevil tento trend u dvou odrůd (BR a RUZ). Obě odrůdy měly nižší hodnoty při chladových teplotních variantách oproti kontrole, avšak statisticky nevýznamné. Podle Ritchie (2006) je normální rozmezí hodnoty fluorescence chlorofylu *a* ( $F_v/F_m$ ) 0,7 až 0,8. Až případně, kdy hodnoty fluorescence klesnou pod 0,6 je možné vzniklý stav označit jako stres. Hodnoty fluorescence získané v pokusu se pohybovaly v intervalu 0,789 až 0,800. Mezi testovanými teplotami v hodnotách  $F_v/F_m$  nebyly zjištěny žádné staticky významné rozdíly (viz přílohy Tabulka 10). Je pravděpodobné, že shodné podmínky nastavené při

následném pěstování rostlin, vyváží hodnoty  $F_v/F_m$  bez ohledu na teplotu, při které byly klíčeny. Je také možné, že rostliny vyrovnají opožděný start (způsobený sníženou teplotou při klíčení) právě jinými morfologickými adaptacemi, jako je rozšíření listu, nebo v přídatě rostlin odrůdy RUZ, také jeho prodloužením. Také podle závěrů studie Fiedler et al. (2014) fluorescence chlorofylu neměla na rychlost růstu při nízkých teplotách žádný významný vliv. S dalším možným vysvětlením přichází Sage & Kubien (2007). Uvádějí, že se v rostlinných druzích typu C4, které jsou tolerantní k ochlazení, omezuje schopnost enzymu Rubisca na teploty pod 20 °C. Je tedy usuzovat, že v ochlazených rostlinách nedošlo k narušení aktivity fotosyntézy, protože funkci PEPkarboxylázy převzal enzym Rubisco.

Protože je průběh fotosyntézy a účinnost PSII úzce spojená s obsahem chlorofylů, jsou zde uvedeny i některé studie zabývající se touto fyziologickou charakteristikou. Ve studii Bekele et al. (2014) byla zjištěna korelace mezi obsahem chlorofylu a mírou přežití. V pokusu této studie byly pěstovány rostliny čiroku zpočátku při teplotě 25 °C/20 °C (den/noc). Poté byla teplota pěstování snížena na 13 °C/11 °C. Po vystavení rostlin nízké teplotě byl změřen obsah chlorofylu v listech. Obsah chlorofylu se po 2 týdnech snížil téměř o polovinu. Jiang et al. (2007) odhadují, že snížený obsah chlorofylů v listech může být způsobený důsledkem jeho enzymatické degradace nebo v důsledku inhibice jeho biosyntézy. Hodnoty obsahů chlorofylů v porovnávaném pokusu jsou vysoké. Při srovnání naměřených hodnot obsahu chlorofylů a fluorescence je možné uvedenou myšlenku Bekele et al. (2014) zcela potvrdit. U rostlin, které měly nižší hodnoty fluorescence byly naměřeny vyšší hodnoty chlorofylů (jako příklad je uvedena odrůda BR) a naopak.

#### **6.4 Hmotnost sušiny**

Ve výzkumu Ercoli et al. (2004) byly rostliny pěstovány při 27 °C. Ve fázi 3 pravých listů byly exponovány několik dnů (varianty 1 den, 4 dny, 8 dní) chladovým podmínkám (varianty 2 °C, 5 °C, 8 °C). A poté byly na 10 dní vráceny do původních teplotních podmínek. Výsledek pokusu ukázal, že ochlazovací procedury značně ovlivnily růst čiroku během chladu. Rostliny po zasažení chladem snížily rychlost růstu, ale při delší expozici chladem se tato rychlost ustálila. Autoři studie poukazují na schopnost rostliny čiroku reagovat na vzniklé podmínky ochlazení. Jako další zjištění uvádí, že při nízké teplotě byl také rostlinou snížen příjem dusíku, který mu byl dodáván ve formě hnojiva. Při snižování teploty reagovala rostlina také zpomalením až zastavením zvyšování hmotnosti. Byly pozorovány rozdíly mezi hmotností sušiny před a po expozici. Pozorování v porovnávaném pokusu dospělo k podobným výsledkům. Obě teplotní varianty u všech tří testovaných odrůd reagovaly na snížení teploty výrazným snížením obsahu sušiny, jež byla zjištěna po usušení a zvážení rostlin.

Z výsledků studie Yu et al. (2004), kdy byly rostliny čiroku pěstovány 30 dní při teplotě 15 °C byly získány také hodnoty hmotnosti sušiny nadzemní části. Rostliny exponované nízké teplotě (15 °C) po celou dobu růstu, dosahovaly průměrné hmotnosti sušiny nadzemní části (přepočítané na 1 rostlinu) 1,54 log (mg) → 0,0018 g. Rostliny pokusu při teplotě klíčení 15 °C měly průměrnou hmotnosti sušiny nadzemní části 0,2-0,4g. Ovšem rostliny, které klíčily při

teplotě 17 °C. Dosahovaly hodnot až 0,05 g, což už je výsledek srovnatelný, vzhledem k rozdílným teplotám během následného růstu (po klíčení).

Vzhledem k tomu, že rostliny z uváděného pokusu byly vystaveny stresu z chladu hned v počátečních fázích, je možné brát v úvahu teorii, že se na další růst v těchto zhoršených podmínkách mohly ještě připravit. Možnost aklimace se zde jeví jako velmi pravděpodobná. Uváděný pokus byl ale ukončen dlouho předtím, než by se tato teorie dala ověřit.

Podle Yu et al. (2004) existuje u čiroku genetická variabilita tolerance chladu. U všech znaků testovaných jejich studií došlo ke zjištění signifikantních genotypových rozdílů. Výsledky jejich studie, z nichž jsou některé uvedené v rámci této diskuze, byly významně korelovány vlastnosti tolerance chladu za podmínek nízké teploty. Autoři se domnívají, že zlepšení zkoumaných růstových charakteristik může být podchyceno vytvořením nových hybridních kultivarů. Takovým směrem se ubírali i autoři výzkumu Fiedler et al. (2014), uvádějí, že na chromosomech SBI-01, SBI-03, SBI-0,7 a SBI-10 byly identifikovány oblasti genomu slibné pro zlepšení chladové tolerance u čiroku.

Z uvedené diskuze vyplývá, že působení nízké teploty v brzkých vývojových stádiích čiroku nemá tak výrazné dopady na budoucí růst rostliny, ve srovnání s působením nízké teploty na rostliny až ve vyšších růstových fázích.

## 7 Závěr

### 7.1 Cíle a hypotézy práce

V pokusu byly porovnávány geneticky variabilní odrůdy semen zrnového čiroku (*Sorghum bicolor* L. Moench) při reakci na sníženou teplotu při klíčení. Cílem práce bylo zhodnotit klíčení rostlin vybraných odrůd čiroku při nízkých teplotách a u rostlin čiroku ve vývojové fázi 1-2 zhodnotit funkčnost fotosyntetického aparátu na úrovni fotosystému II (PSII) metodou fluorescence chlorofylu *a*.

Z výsledků, které byly získány provedením pokusu, lze vyvodit tyto závěry:

- testované odrůdy se svojí reakcí na nízkou teplotu výrazně lišily,
- jako odrůda nejméně vhodná pro pěstování při nižších teplotách byla vyhodnocena odrůda Barnards Red (BR),
- odrůdy RCAT 016982 (RCAT) a Ruzrok (RUZ) na sníženou teplotu reagovaly různými způsoby kompenzace,
- měření fluorescence chlorofylu *a* (na úrovni PSII), ve vývojové fázi 2, při klíčení ovlivněném sníženou teplotou, nebylo statisticky průkazné.

Pro pokus byly stanoveny tyto hypotézy:

Hypotéza 1.:

Za působení nižších teplot dochází u rostlin čiroku (*Sorghum* sp.) ke snížení klíčivosti.

Tato hypotéza byla potvrzena u všech testovaných odrůd v obou teplotních variantách klíčení (15 a 17 °C). Při snížené teplotě dochází ke zpomalení klíčení (v porovnání s kontrolní teplotou klíčení 20 °C) a to u všech tří odrůd (RUZ, RCAT, BR). Potvrzení hypotézy je zřejmé především z výsledků 3. kontrolního dne klíčení (viz Obrázek 8).

Hypotéza 2.:

Stresové podmínky nižší teploty při klíčení se projeví na úrovni PSII i ve vyšších vývojových fázích těchto rostlin.

Hypotéza projevu stresových podmínek na fotosyntetický aparát (na úrovni PSII) se nepotvrdila na žádné z testovaných odrůd. Výsledky fluorescence chlorofylu *a* nevykazovaly statisticky významné rozdíly mezi odrůdami ani testovanými teplotami klíčení. K poklesu hodnoty  $F_v/F_m$  nedošlo, protože rostliny včasně reagovaly kompenzační morfologickou schopností, kdy došlo ke zvětšení listové plochy nebo ke zvýšení obsahu chlorofylů v listech.

### 7.2 Další získané závěry

- působení nízké teploty se na vyšších vývojových fázích se projevilo ve výšce rostliny, šířce a délce listu a hmotnosti sušiny,
- všechny testované odrůdy se sníženou teplotou snižovaly tvorbu sušiny v nadzemní části rostliny,
- na teplotu klíčení 17 °C byly zjištěny neobvyklé reakce u všech testovaných odrůd. Rostliny odrůdy BR klíčené při této teplotě vykazovaly ve všech znacích nižší hodnoty

než rostliny stejné odrůdy při teplotě klíčení 15 °C. Naopak odrůda RUZ vykazovala, ve většině pozorovaných parametrů, vyšší hodnoty oproti kontrolní teplotě klíčení,

- byly zjištěny významné reakce rostliny odrůdy Ruzrok (RUZ) vůči snížené teplotě, ve všech pozorovaných charakteristikách. Ve většině pozorování rostlina reagovala opačně než ostatní dvě testované odrůdy.

### **7.3 Doporučení pro praxi a další výzkum**

- Pro pěstování při snížené teplotě byla nejlépe vyhodnocena odrůda Ruzrok (RUZ). Tato odrůda je vhodná i pro pěstování v ekologickém režimu.
- Odrůda RCAT 016982 (RCAT) měla při kontrolní variantě (klíčení při 20 °C) ve všech pozorovaných parametrech nejvyšší zjištěné hodnoty. Má tedy velmi dobré genetické vlastnosti vhodné do normálních podmínek. Z bakalářské práce (Lhotská 2017) byla vyhodnocena jako odrůda nejvíce přizpůsobivá zasolenému prostředí. Vzhledem k tomu, že odrůda byla získána z genové banky a v běžné praxi není dostupná, je doporučena pro další výzkum.
- Naopak odrůda Barnards Red byla ve zmíněné bakalářské práci (Lhotská 2017) vyhodnocena jako málo přizpůsobivá zasolení. Z uváděného výzkumu je také nevhodná pro pěstování ve snížených teplotách.

## 8 Literatura

- Ajigboye OO, Ray RV, Murchie EH. 2018. Chlorophyll Fluorescence on the Fast Timescale. Pages 95-104 in Covshoff S, editor. *Photosynthesis: Methods and Protocols*. Humana Press, New York.
- Andrade JA, Cadima J, Abreu FM. 2018. Modeling germination rate and cardinal temperatures of seven mediterranean crops. *Journal of Crop Improvement* **32**:878-902.
- Arendt E, Zannini E. 2013. *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*. Woodhead Publishing, Philadelphia.
- Baker NR, Oxborough K. 2004. Chlorophyll Fluorescence as a Probe of Photosynthetic Productivity. Pages 65-82 in Papageorgiou GC, Govindjee, editors. *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Springer, The Netherlands.
- Baxter B. 2014. Plant acclimation and adaptation to cold environments. Pages 19-48 in Franklin KA, Wigge PA, editors. *Temperature and Plant Development*. Wiley Blackwell.
- Balota M, Payne WA, Veeragom SK, Stewart BA, Rosenow DT. 2010. Respiration and Its Relationship to Germination, Emergence, and Early Growth Under Cool Temperatures in Sorghum **50**:1414-1422.
- Bekele WA, Fiedler K, Shiringani A, Schnaubelt D, Windpassinger S, Uptmoor R, Friedt W, Snowdon RJ. 2014. Untravelling the genetic complexity of sorghum seedling development under low-temperature conditions. *Plant, Cell and Environment* **34**:707-723.
- Benech-Arnold R, Rodríguez MV, Sánchez RA, Carrari F, Pérezflores L, Osuna-Fernández HR, Iusem N, Lijavetzky D, Stanelloni R, Bottoni R. 2003. Physiological and Molecular Aspects of the Control of Dormancy and Germination in Developing Sorghum Caryopses. Pages 11-24 in Nicolás G, Bradford KJ, Côme D, Pritchard HW, editors. *The Biology of Seeds, Recent Research Advances*. CAB International. USA.
- Bhatla SC. 2018. Light Perception and Transduction. Pages 519-558 in Bhatla SC, Lal MA, editors. *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, Singapore.
- Bláha L, Hnilička F. 2006. Význam vlastností kořenů a semen pro odolnost rostlin vůči abiotickým stresorům. Pages 1-9 in Hnilička F, editor. *Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2006 (Sborník příspěvků)*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, Praha.
- Brodignon L, Faria AP, Franca MGC, Fernandes GW. 2019. Osmotic stress at membrane level and photosystem II activity in two C4 plants after growth in elevated CO2 and temperature. *Annals of Applied Biology* **174**:113-122.
- Bräutigam A, Schlüter U, Lundgren MR, Flachbart S, Ebenhöf O, Christin PA, Bleuler S, Droz JM, Osborne CP, Weber APM, Gowik U. 2018. Biochemical mechanisms driving rapid fluxes in C4 photosynthesis. *BioRxiv* 387431 doi.org/10.1101/387431.

- Casella S, Huang F, Liu, LN. 2016. Adaption and Regulation of Photosynthetic Apparatus in Response to Light. Pages 53-64 in Pessaraki M. editor. Handbook of Photosynthesis. 3rd ed. CRC Press, USA.
- Choudhary S, Kholová J. 2017. Sorghum. Pages 65-71 in Sinclair TR, editor. Water-Conservation Traits to Increase Crop Yields in Water-deficit Environments. Springer, Cham.
- Cramer WA, Hasan SS. 2016. Structure-Function of the Cytochrome *b<sub>6</sub>f* Lipoprotein Complex 177-207 in Cramer WA, Kallas T. editors. Cytochrom Complexes: Evolution, Structures, Energy Transduction, and Signaling. Springer, Dordrecht.
- Dahlberg JA. 2000. Classification and Characterization of Sorghum. Pages 99-131 in: Wayne C, Smith I, Frederiksen RA, editors. Sorghum - origin, history, technology and production. Wiley, New York.
- da Silva TM, de Oliveira AB, de Moura JG, da Trindade Lessa BF, de Oliveira LSB. 2019. Potencial of Sweet Sorghum Juice as a Source of Ethanol for Semi-arid Regions: Cultivars and Spacing Arrangement Effects. Sugar Tech **21**:145-152.
- de Morais Cardoso L, Pinheiro SS, Martino HSD, Pinheiro-Saint'Ana HM. 2017. Sorghum (*Sorghum bicolor*L.): Nutrient, bioactive compounds, and potential impact on human health. Critical Reviews in Food Science and Nutrition **57**:372-390.
- do Nascimento MA, do Nascimento CV, Antunes JE, do Vale Figueiredo M, Tobosa JN, Martínez CR. 2014. Selection of plant growth-promoting bacteria in sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) under the effects of salinity. BMC Proceedings **8**: doi.org/10.1186/1753-6561-8-S4-P113.
- Dostál J. 1989. Nová květena ČSSR 2. Academia Praha, Praha.
- Duca M. 2015. Plant Physiology (Biological and medical physics, biomedical engineering). Springer International Publishing, Switzerland.
- DuPont Pioneer. 2019. Grain Sorghum Management. DuPont Pioneer. Available from <https://www.pioneer.com/home/site/us/agronomy/grain-sorghum-management/#GrowthandDevelopment> (accessed březen 2019).
- Elzebroek ATG, Wind K. 2008. Guide to cultivated plants. CAB International.
- Ercoli L, Mariotti M, Masoni A, Arduini I. 2004. Growth responses of sorghum plants to chilling temperature and duration of exposure. European Journal of Agronomy **21**:93-100.
- Esim N, Atiti Ö. 2016. Relationships between some endogenous signal compounds and the antioxidant system in response to chilling stress in maize (*Zea mays* L.) seedlings. Turkish Journal of Botany **40**:37-44.
- FAO. 2018. FAOSTAT: Production – Crops. FAO. Available from <http://www.fao.org/faostat/> (accessed February 2019).

- Fiedler K, Bekele WA, Duensing R, Grundig S, Snowdon R, Stuetzel H, Zacharias A, Uptmoor R. 2014. Genetic dissection of temperature-dependent sorghum growth during juvenile development. *Theoretical and Applied Genetics* **127**:1935-1948.
- Filippou P, Antoniou C, Fotopoulos V. 2013. Role of Nitrosative Signaling in Response to Changing Climates. Pages 137-162 in Tuteja N, Gill SS, editors. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*. Wiley-Blackwell, Germany.
- Gerik T, Bean B, Vanderlip R. 2003. Sorghum growth and development. *Agrilife Communications and Marketing, Texas A&M System B-6137* 7-03.
- Getachew G, Putnam DH, De Ben CM, De Peters E. 2016. Potential of Sorghum as an Alternative to Corn Forage. *American Journal of Plant Sciences* **7**:1106-1121.
- Gloser J, Prášil I. 1998. Fyziologie stresu. Pages 412-431 in Procházka S. et al., editors. *Fyziologie rostlin*. Academia, Praha.
- Goltsev VN, Kalaji HM, Paunov M, Baba W, Horaczek T, Mojski J, Kociel H, Allakhverdiev SI. 2016. Variable Chlorophyll Fluorescence and Its Use for Assessing Physiological Condition of Plant Photosynthetic Apparatus. *Russian Journal of Plant Physiology* **63**:869-893.
- Guidi L, Lo Piccolo E, Landi M. 2019. Chlorophyll Fluorescence, Photoinhibition and Abiotic Stress: Does it Make Any Difference the Fact to Be a C3 or C4 Species? *Frontiers in plant science* **10**: DOI: 10.3389/fpls.2019.00174.
- Haberle J, Trčková M, Růžek P. 2008. Příčiny nepříznivého působení sucha a dalších abiotických faktorů na příjem a využití živin obilninami a možnosti jeho omezení. *Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha*.
- Harbinson J, Rosenqvist E. 2003. An Introduction to Chlorophyll Fluorescence. Pages 1-31 in DeEll JR, Toivonen PMA, editors. *Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology*. Springer Science+Business Media, New York.
- Hasunuzzaman M, Nahar K, Fujita M. 2013. Plant Response to Salt Stress and Role of Exogenous Protectants to Mitigate Salt-Induced Damages. Pages 25-89 in Ahmad P, Azooz MM, Prasad MNV, editors. *Ecophysiology and Responses of plants under salt stress*. Springer Science and Business Media.
- Hermuth J, Janovská D, Stražil Z, Ušák S, Hýsek J. 2012. Čirok obecný (*Sorghum bicolor* (L.) MOENCH, možnosti využití v podmínkách České republiky – metodika pro praxi. *Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha – Ruzyně*.
- Hermuth J, Kosová K, Podrábský M, Trávníček P, Frydrych J, Hladík J, Král L. 2018. Pěstební technologie zrnového čiroku odrůdy Ruzrok. *Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha*.
- Hnilička F, Hniličková H. 2016. Obecná koncepce stresu. Pages 2-28 in Hnilička F, Středa T, editors. *Rostliny v podmínkách stresu – abiotické stresory*. Česká zemědělská univerzita v Praze. Praha.



- Hnilička F, Hniličková H, Bláha L. 2003. Působení vnějších negativních faktorů na rostliny, abiotické stresory. Pages 9-33 in Bláha L, Hnilička F, Hniličková H, Holubec V, Möllerová J, Štolcová J, Zieglerová J, editors. Rostlina a stres. VÚRV, Praha.
- Hnilička F, Kuklová M, Kudrna J, Pivková I, Hniličková H, Kukla J, Sládek K. 2018. Vliv nízkých teplot na výměnu plynů juvenilních rostlin máku setého (*Papaver somniferum* L.). Pages 51-56 in Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2018: (sborník recenzovaných vědeckých prací). Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Holubová K. 2002. Obiloviny. Pages 77-88 in: Valíček P, Hlava B, Holubová K, Hušák S, Kokoška L, Matějka V, Michl J, Pavel L, Polesný Z, Wróblewská E, editors. Užitkové rostliny tropů a subtropů, 2. vydání. Academia, Praha.
- Hopkins WG, Hüner NPA. 2008. Introduction to plant physiology. John Wiley and Sons, Hoboken.
- Huang W, Tikkanen M, Cai YF, Wang JH, Zhang SB. 2018. Chloroplastic ATP synthase optimizes the trade-off between photosynthetic CO<sub>2</sub> assimilation and photoprotection during leaf maturation. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics* **1859**:1067-1074.
- Hussain HA, Hussain S, Khaliq A, Ashraf U, Anjum SA, Men S, Wang L. 2018. Chilling and Drought Stresses in Crop Plants: Implications, Cross Talk, and Potential Management Opportunities. *Frontiers in Plant Science* **9**: DOI=10.3389/fpls.2018.00393
- Ikkonen EN, Shibaeva TG, Titov AF. 2018. Influence of Daily Short-Term Temperature Drops on Respiration to Photosynthesis Ratio in Chilling-Sensitive Plants. *Russian Journal of Plant Physiology* **65**:78-83.
- Jain M. 2008. Topic on Botany: Photosynthesis part II. *Competition Science Vision* **11**:240-244.
- Jajoo A, Allakhverdiev SI. 2017. High-temperature Stress in Plants: Consequences and Strategies for Protecting Photosynthetic Machinery. Pages 138-154 in Shabala S, editor. *Plant Stress Physiology*, 2nd Edition. CAB International.
- Jansen MAK. 2017. Ultraviolet-B Radiation: Stressor and Regulatory Signal. Pages 253-278 in Shabala S, editor. *Plant Stress Physiology*, 2nd Edition. CAB International.
- Jia W, Lv S, Feng J, Li J, Li Y, Li S. 2016. Morphophysiological characteristic analysis demonstrated the potential of sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) in the phytoremediation of cadmium-contaminated soils. *Environmental Science and Pollution Research* **23**:18823-18831.
- Jiang HM, Yang JC, Zhang JF. 2007. Effect of external phosphorus on the cell ultrastructure and the chlorophyll content of maize under cadmium and zinc stress. *Environmental Pollution* **147**:750-756.
- Jung S, Steffen KL. 1997. Influence of photosynthetic photon flux densities before and during long-term chilling on xanthophyll cycle and chlorophyll fluorescence quenching in leaves of tomato (*Lycopersicon hirsutum*). *Physiologia Plantarum* **100**: 958–966.

- Kalaji HM, Jajoo A, Oukarroum A, Brestic M, Zivcak M, Samborska IA, Cetner MD, Lukasik I, Goltsev V, Landle RJ. 2016. Chlorophyll *a* fluorescence as a tool to monitor physiological status of plants under abiotic stress conditions. *Acta Physiologiae Plantarum* **38**:102.
- Kalaji MH, Goltsev VN, Zuk-Golaszewska K, Zivcak M, Brestic M. 2017. Chlorophyll Fluorescence Understanding Crop Performance – Basics and Applications. CRC Press, Boca Raton.
- Kaplan M, Temizgul R, Beyzi SB, Kokten K, Karaman K. 2018. Classification of different *Sorghum bicolor* genotypes depending on fatty acid composition with using Biplot Analysis. *Progress in Nutrition* **20**:699-705.
- Klein RR, Miller FR, Bean S, Klein PE. 2015. Registration of 40 Converted Germplasm Sources from the Reinstated Sorghum Conversion Program. *Journal of Plant Registrations – GERMPLASM* **10**:57-61.
- Kodama N, Yamori W. 2016. Estimation of Mesophyll Conductance and Its Applications. Pages 65-74 in Pessarakli M. editor. *Handbook of Photosynthesis*. 3rd ed. CRC Press, USA.
- Koochak H, Puthiyaveetil S, Mullendore DL, Li M, Kirchhoff H. 2019. The structural and functional domains of plant thylakoid membranes. *The plant journal* **97**:412-429.
- Kume A, Akitsu T, Nasahara KN. 2018. Why is chlorophyll *b* only used in light-harvesting systems?. *Journal of Plant Research* **131**:961-972.
- Kůst F, Stehlíková J. 2016. Situační a výhledová zpráva obiloviny prosinec 2016. Ministerstvo zemědělství. Praha.
- Kůst F, Záruba J. 2017. Situační a výhledová zpráva obiloviny 2017. Ministerstvo zemědělství. Praha.
- Lal MA. 2018. Photosynthesis. Pages 159-226 in Bhatla SC, Lal MA, editors. *Plant Physiology, Development and Metabolism*. Springer, Singapore.
- Lambers H, Chapin III FS, Pons TL. 2008. *Plant Physiological Ecology*. 2nd ed. Springer, New York.
- Lara MV, Andreo CS. 2016. Photosynthesis in Nontypical C<sub>4</sub> Species C<sub>4</sub> Cycles without Kranz Anatomy and C<sub>4</sub> Crassulacean Acid Metabolism Transitions. Pages 307-323 in Pessarakli M. editor. *Handbook of Photosynthesis*. 3rd ed. CRC Press, USA.
- Larcher W. 2003. *Physiological Plant Ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups*. 4th ed. Springer, Berlín.
- Lhotská M. 2017. Vliv zasolení na klíčení čiroku (*Sorghum* sp.) [BSc. Thesis]. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha.
- Lobell DB, Gourdji SM. 2012. The Influence of Climate Change on Global Crop Productivity. *Plant Physiology* **160** (4): 1686-1697.

- Ma X, Chen C, Yang M, Dong X, Lv W, Meng Q. 2018. Cold-regulated protein (SICOR413IM1) confer chilling stress tolerance in tomato plants. *Plant Physiology and Biochemistry* **124**:29-39.
- Marinov-Serafimov P, Golubinova I, Enchev S. 2018. Reaction of *Sorghum vulgare* var. *technicum* [KORN.] in the early growth stages of development in drought and water deficiency in laboratory conditions. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* **24**:90-99.
- Moustaka J, Ouzounidou G, Sperdouli I, Moustakas M. 2018. Photosystem II Is More Sensitive than Photosystem I to Al<sup>3+</sup> Induced Phytotoxicity. *Materials* **11**. doi:[10.3390/ma11091772](https://doi.org/10.3390/ma11091772).
- Muraya MM. 2015. Sorghum Genetic Diversity. Pages 114-140 in Wang YH, Upadhyaya HD, Kole C. Genetics, genomics and breeding of sorghum. Taylor and Frances Group, New York.
- Nátr L. 1998. Fotosyntéza. Pages 124-171 in Procházka et al. editors. Fyziologie rostlin. Academia, Praha.
- Nomura K, Endo I, Tateishi A, Inoue H, Yoneda K. 2001. A chilling-insensitive stage in germination of a low-temperature-adapted radish, rat's tail radish (*Raphanus sativus* L.) cv. „Pakkihood“. *Scientia Horticulturae* **90**:209-218.
- Nosek L, Semchonok D, Boekema EJ, Ilík P, Kouřil R. 2017. Structural variability of plant photosystem II megacomplexes in thylakoid membranes. *The Plant Journal* **89**: 104-111.
- Nouri H, Talab ZA, Tavassoli A. 2012. Effect of weed allelopathic of sorghum (*Sorghum halapense*) on germination and seedling growth of wheat, Alvand cultivar. *Annals of Biological Research* **3**:1283-1293.
- Ohwoavworhwa FO, Adelakun TA. 2010. Non-wood Fibre Production of Microcrystalline Cellulose from *Sorghum caudatum*: Characterisation and Tableting Properties **72**:295-301.
- Ortiz D, Hu J, Salas Fernandez MG. 2017. Genetic architecture of photosynthesis in *Sorghum bicolor* under non-stress and cold stress conditions. *Journal of Experimental Botany* **68**:4545-4557.
- Peacock JM. 1982. Response and Tolerance of Sorghum to Temperature Stress. Pages 143-159 in House, LR, Mughogho LK, Peacock, editors. Sorghum in the Eighties: Proceeding of the International Symposium on Sorghum. INCRISAT, Patancheru, India.
- Peerzada AM et al. 2017. Eco-biology, impact, and management of *Sorghum halapense* (L.) Pers. *Biological Invasions* **16**:1-9.
- Petříková V. 2015. Čiroky. Pages 51-58 in: Petříková V, Weger J, editors. Pěstování rostlin pro energetické a technické využití, biomasa, bioplyn, krmiva. Profi Press s.r.o. Praha, Praha.
- Petříková V, Sladký V, Stražil Z, Šafařík M, Ust'ak S, Váňa J. 2006. Energetické plodiny. Profi Press s.r.o. Praha, Praha.
- Pexová Kalinová J. 2011. Čirok. Pages 36-40 in: Moudrý J, et al., editors. Alternativní plodiny. Profi Press s.r.o. Praha, Praha.

- Raju SKK, Barnes AC, Schnable JC, Roston RL. 2018. Low-temperature tolerance in land plants: Are transcript and membrane responses conserved? *Plant Science* **276**:73-86.
- Ramakrishna A, Ravishankar GA. 2013. Role of Plant Metabolites in Abiotic Stress Under Changing Climatic Conditions with Special Reference to Secondary Compounds. Pages 705-726 in Tuteja N, Gill SS, editors. *Climate Change and Plant Abiotic Stress Tolerance*. Wiley-Blackwell, Germany.
- Rebeiz CA. 2014. *Chlorophyll Biosynthesis and Technological Applications*. Springer Science+Business Media, Dordrecht.
- Reddy SP. 2017. Sorghum, *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Pages 1-49 in Patil JV, editor. *Millets and Sorghum: Biology and Genetic Improvement*. Wiley Blackwell.
- Rhodes DH, Hoffmann Jr. L, Rooney WL, Herald TJ, Bean S, Boyles R, Brenton ZW, Kresovitch S. 2017. Genetic architecture of kernal composition in global sorghum germplasm. *BMC Genomics*. **18**: DOI 10.1186/s12864-016-3403-x.
- Ritchie GA. 2006. Chlorophyll Fluorescence: What Is It and What Do the Numbers Mean? Pages 34-43 in *USDA Forest Service Proceedings RMRS P-43*. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Fort Collins, CO.
- Rizzarda MA, Wandscheer ACD. 2014. Interference of *Sorghum sudanense* and *Eleusine indica* in the soybean and corn cultivation. *Planta Daninha* **32**:19-30.
- Rooney WL. 2004. Sorghum improvements-integrating traditional and new technology to produce improved genotypes. *Advance in Agronomy* **83**:37-109.
- Sage RF, Kubien DS. 2007. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. *Plant, Cell & Environment* **30**:1086-1106.
- Schmidt JJ, Yerka MK, Pedersen JF, Lindquist JL. 2018. Growth, Fitness, and Overwinter Survival of Shattercane (*Sorghum bicolor* ssp. *drummondii*) x Grain Sorghum (*Sorghum bicolor* ssp. *bicolor*) F<sub>2</sub> Population. *Weed Science* **66**:634-641.
- Shafiei Darabi SA, Almodares A. 2018. Cadmium, lead and arsenic remediation in urban wastewater by sorghum bicolor (L.). *Journal of Water and Wastewater*. Doi: 10.22093/wwj.2018.90922.2443.
- Shehzad M, Ayub M, Ahmad AUH, Yassen M. 2012. Influence of priming techniques on emergence and seedling growth of forage sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *The Journal of Animal & Plant Sciences* **22**:154-158.
- Shinkarev V. 2004. Photosystem II: Oxygen Evolution and Chlorophyll a Fluorescence Induced by Multiple Flashes. Pages 197-229 in Papageorgiou GC, Govindjee, editors. *Chlorophyll a Fluorescence: A Signature of Photosynthesis*. Springer, The Netherlands.
- Sillanpää M, Ncibi C. 2017. Biofuels and Bioenergy. Pages 79-139 in Sillanpää M, Ncibi C., editors. *A Sustainable Bioeconomy: The Green Industrial Revolution*. Springer, Cham.

- Silva-Neta IC, Pinho EV, Veiga AD, Pinho RG, Guimaraes RM, Caixeta F, Santos HO, Marques TL. 2015. Expression of genes related to tolerance to low temperature for maize seed germination. *Genetics and molecular research* **14**:2674-2690.
- Singh J, Thacur JK. 2018. Photosynthesis and Abiotic Stress in Plants. Pages 27-46 in Vats S, editor. *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Springer Nature, Singapore.
- Shah SH, Ali S, Qureshi AA, Zia MA, Din J, Ali GM. 2017. Chilling tolerance in three tomato transgenic lines overexpressing CBF3 gene controlled by a stress inducible promoter. *Environmental Science and Pollution Research* **24**:18536-18553.
- Stavridou E, Voulgari G, Bosmali I, Chronopoulou EG, Cicero LL, Piero ARL, Labrou NE, Tsaftaris A, Nianiou-Oberidat I, Madesis P. 2018. Plant Adaptation to Stress Conditions: The Case of Glutathione S-Transferases (GSTs). Pages 173-202 in Vats S, editor. *Biotic and Abiotic Stress Tolerance in Plants*. Springer Nature, Singapore.
- Taiz L, Zeiger E. 2006. *Plant physiology*. 4th ed. Sunderland: Sinauer Associates.
- Ubierna N, Gandin A, Boyd RA, Cousins AB. 2016. Temperature response of mesophyll conductance in three C<sub>4</sub> species calculated with two methods: <sup>18</sup>O discrimination and in vitro V<sub>pmax</sub>. *New Phytologist* **214**:66-80.
- Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. 2019. Databáze odrůd – detail odrůdy. Ministerstvo zemědělství. Available from <http://eagri.cz/public/app/sok/odrudyNouVF.do> (accessed březem 2019).
- ÚKZÚZ. 2019. Databáze odrůd – Státní odrůdová kniha. Ministerstvo zemědělství. Available from <http://eagri.cz/public/app/sok/odrudyNouQF.do> (accessed February 2019).
- Wahid A, Farooq M, Basra SMA, Rasul E, Siddique KHM. 2011. Germination of Seeds and Propagules under Salt Stress. Pages 321-339 in Pessarakli M., editor. *Handbook of plant and crop stress*, Third edition. CRC Press. USA.
- Wang X, Chen C, Wang J. 2017. Phytoremediation of strontium contaminated soil by *Sorghum bicolor* (L.) Moench and soil microbial community-level physiological profiles (CLPPs). *Environmental Science and Pollution Research* **8**:7668-7678.
- Winter K, Sage RF, Edwards EJ, Virgo A, Holtum JAM. 2019. Facultative CAM in a C3-C4 Intermediate. *Journal of Experimental Botany* **erz085** [doi.org/10.1093/jxb/erz085](https://doi.org/10.1093/jxb/erz085).
- Wise RR. 1995. Chilling-enhanced photooxidation: The production, action and study of reactive oxygen species produced during chilling in the light. *Photosynthesis Research* **45**:79-97.
- Xia Q, Tan J, Ji X, Jiang Y, Guo Y. 2018. Modelling and simulation of chlorophyll fluorescence from photosystem II as affected by temperature. *IET Systems Biology* **12**:304-310.
- Yu W, Sheng J, Zhao R, Wang Q, Ma P, Shen L. 2019. Ethylene biosynthesis is involved in regulating chilling tolerance and SICBF1 gene expression in tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology* **149**:139-147.

- Yu J, Tuinstra MR, Classen MM, Gordon, WB, Witt MD. 2004. Analysis of cold tolerance in sorghum under controlled environment conditions. *Field Crops Research* **85**:21-30.
- Yu J, Tuinstra MR. 2001. Genetic Analysis of Seedling Growth under Cold Temperature Stress in Grain Sorghum. *Crop Science* **41**:1438-1443.
- Zegada-Lizarazu W, Luna DF, Monti A. 2016. Differential characteristics of photochemical acclimation to cold in two contrasting sweet sorghum hybrids. *Psychologia Plantarum* **157**:479-489.
- Zhang S, Scheller HV. 2004. Photoinhibition of Photosystem I at Chilling Temperature and Subsequent Recovery in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* **45**:1595-1602.

## 9 Seznam použitých zkratk a symbolů

ABA – kyselina abscisová

ATP – adenosin trifosfát

ATPáza – adenosin trifosfátsyntáza

BSCs – buňky pochev cévních svazků (bundle sheath cells)

BR – odrůda Barnards red

ChIF – chlorofylová fluorescence

ETC – transportní elektronový řetězec

LHC – světlo sběrný komplex

LT50 – letální teplota

NAD(P)<sup>+</sup> - Nikotinamidadenin dinukleotid(fosfát) – oxidovaná forma

NAD(P)H<sup>+</sup> - Nikotinamidadenin dinukleotid(fosfát) – redukovaná forma

PAR – fotosyntetický aktivní radiace

PEP - fosfoenolpyruvát

PEP-karboxyláza – fosfoenolpyruvát karboxyláza

PGA – kyselina 3-fosfoglycerová

PGAL – glyceraldehyd-3-fosfát

PSI – fotosystém I

PSII – fotosystém II

RC – reakční centrum

RCAT – odrůda RCAT 016982

ROS – reaktivní formy kyslíku

RuBisCo – ribulosa-1,5-bisfosfát karboxyláza/oxidáza

RuBP – ribulosa-1,5-bisfosfát

RUZ – odrůda Ruzrok

ÚKZÚZ – Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský

## 10 Samostatné přílohy

### 10.1 Množství vyklíčených semen 3. den

Tab. 4: Výsledková tabulka – Množství vyklíčených semen 3. den (v %)

Tukeyův HSD test; proměnná Vyklíčené 3. den (%)								
Homogenní skupiny, alfa = ,05000								
Chyba: meziskup. PČ = 22,625, sv = 112,00								
Odrůda	Teplota (°C)	Vyklíčené 3. den (%) Průměr	1	2	3	4	5	6
RUZ	15	20,15385	****					
BR	17	23,50000	****	****				
RUZ	17	28,00000		****				
BR	15	37,40000			****			
RCAT	15	37,43750			****			
RUZ	20	44,00000					****	
BR	20	56,00000				****		
RCAT	17	60,00000				****		
RCAT	20	68,00000						****

### 10.2 Množství vyklíčených semen 6. den

Tab. 5: Výsledková tabulka – Množství vyklíčených semen 6. den (v %)

Tukeyův HSD test; proměnná Vyklíčené 6. den (%)						
Homogenní skupiny, alfa = ,05000						
Chyba: meziskup. PČ = 11,924, sv = 112,00						
Odrůda	Teplota (°C)	Vyklíčené 6. den (%) Průměr	1	2	3	4
BR	17	35,00000				****
RCAT	15	48,71875	****			
BR	15	50,36000	****			
RUZ	20	52,00000	****			
BR	20	64,00000			****	
RCAT	17	68,00000			****	
RUZ	15	72,92308		****		
RUZ	17	76,00000		****		
RCAT	20	76,00000		****		



### 10.3 Počet vzešlých rostlin

Tab. 6: Výsledková tabulka – Průměrný počet vzešlých rostlin (v %)

Tukeyův HSD test; proměnná Počet vzešlých rostlin (%)						
Homogenní skupiny, alfa = ,05000						
Chyba: meziskup. PČ = 113,76, sv = 112,00						
Odrůda	Teplota (°C)	Vzešlé (%) Průměr	1	2	3	4
BR	17	50,0000			****	
BR	15	58,3200			****	****
RUZ	15	71,7615				****
RCAT	17	87,5000	****			
RCAT	15	89,9500	****	****		
BR	20	90,9000	****	****		
RCAT	20	100,0000	****	****		
RUZ	17	100,0000		****		
RUZ	20	100,0000	****	****		

### 10.4 Průměrná výška rostliny

Tab. 7: Výsledková tabulka – Průměrná výška rostlin (v cm)

Tukeyův HSD test; proměnná Výška rostlin (cm)					
Homogenní skupiny, alfa = ,05000					
Chyba: meziskup. PČ = 117,58, sv = 112,00					
Odrůda	Teplota (°C)	Výška rostlin (cm) Průměr	1	2	3
BR	17	26,40000		****	****
RCAT	17	30,40000			****
BR	20	34,08571	****	****	****
BR	15	37,04000	****	****	****
RCAT	15	43,67500	****	****	
RUZ	20	46,96364	****	****	
RUZ	17	47,52143	****	****	
RUZ	15	49,06923	****		
RCAT	20	50,36000	****		

## 10.5 Průměrná délka listu

Tab. 8: Výsledková tabulka – Průměrná délka listu (v cm)

Tukeyův HSD test; proměnná Délka listu (cm); Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = 20,762, sv = 112,00						
Odrůda	Teplota (°C)	Délka listu (cm) Průměr	1	2	3	4
BR	17	11,23600			****	****
RCAT	17	14,77795			****	
BR	15	15,61750	****		****	****
BR	20	15,78100	****	****	****	****
RUZ	20	19,34136	****	****	****	****
RCAT	15	19,83381	****	****		****
RUZ	15	21,11054	****	****		
RCAT	20	21,73850	****	****		
RUZ	17	21,91586		****		

## 10.6 Průměrná šířka listu

Tab. 9: Výsledková tabulka – Průměrná šířka listu (v cm)

Tukeyův HSD test; proměnná Šířka listu (cm); Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = ,07050, sv = 112,00				
Odrůda	Teplota (°C)	Šířka listů (cm) Průměr	1	2
BR	17	0,680667	****	****
RCAT	17	0,726190		****
BR	20	0,794571	****	****
RUZ	20	0,903182	****	****
RCAT	15	0,956594	****	****
BR	15	0,963000	****	****
RCAT	20	1,030500	****	****
RUZ	15	1,079615	****	
RUZ	17	1,169286	****	

## 10.7 Fluorescence ( $F_v/F_m$ )

Tab. 10: Fluorescence ( $F_v/F_m$ )

Tukeyův HSD test; proměnná $F_v/F_m$ , Homogenní skupiny, alfa = ,05000 Chyba: meziskup. PČ = ,00003, sv = 45,000			
Odrůda	Teplota (°C)	$F_v/F_m$ Průměr	1
BR	17	0,789000	****
RUZ	15	0,790143	****
RCAT	17	0,790500	****
BR	15	0,793857	****
RCAT	20	0,795600	****
BR	20	0,795600	****
RUZ	17	0,796750	****
RCAT	15	0,796917	****
RUZ	20	0,800200	****

## 10.8 Obsah chlorofylů

Tab. 11: Výsledková tabulka – Průměrný obsah chlorofylů v listech (CCI)

Tukeyův HSD test; proměnná Obsah chlorofylů  
Homogenní skupiny, alfa = ,05000  
Chyba: meziskup. PČ = 8,7860, sv = 108,00

Odrůda	Teplota (°C)	Obsah chlorofylů Průměr	1	2	3
RCAT	17	9,82353		****	
RCAT	15	11,40833	****	****	
RUZ	17	12,10833	****	****	
RCAT	20	13,48824	****		
RUZ	15	13,54286	****		
BR	17	13,87500	****	****	
RUZ	20	14,00000	****		
BR	20	20,00000			****
BR	15	21,22857			****

## 10.9 Průměrná hmotnost sušiny

Tab. 12: Výsledková tabulka – Průměrná hmotnost sušiny (v g)

Tukeyův HSD test; proměnná Hm. sušiny (g)  
Homogenní skupiny, alfa = ,05000  
Chyba: meziskup. PČ = ,01010, sv = 112,00

Odrůda	Teplota (°C)	Hm. sušiny (g) Průměr	1	2	3	4	5	6
BR	17	0,052100		****	****			
RCAT	17	0,069000		****				
RUZ	17	0,212000			****	****		
RCAT	15	0,245188				****	****	
BR	15	0,353600	****				****	
RUZ	15	0,389923	****					
RUZ	20	0,428000	****					
BR	20	0,507000	****					
RCAT	20	0,694000						****

## 10.10 Fotodokumentace pokusu

### 10.10.1 Rostliny 2. týden po přesazení



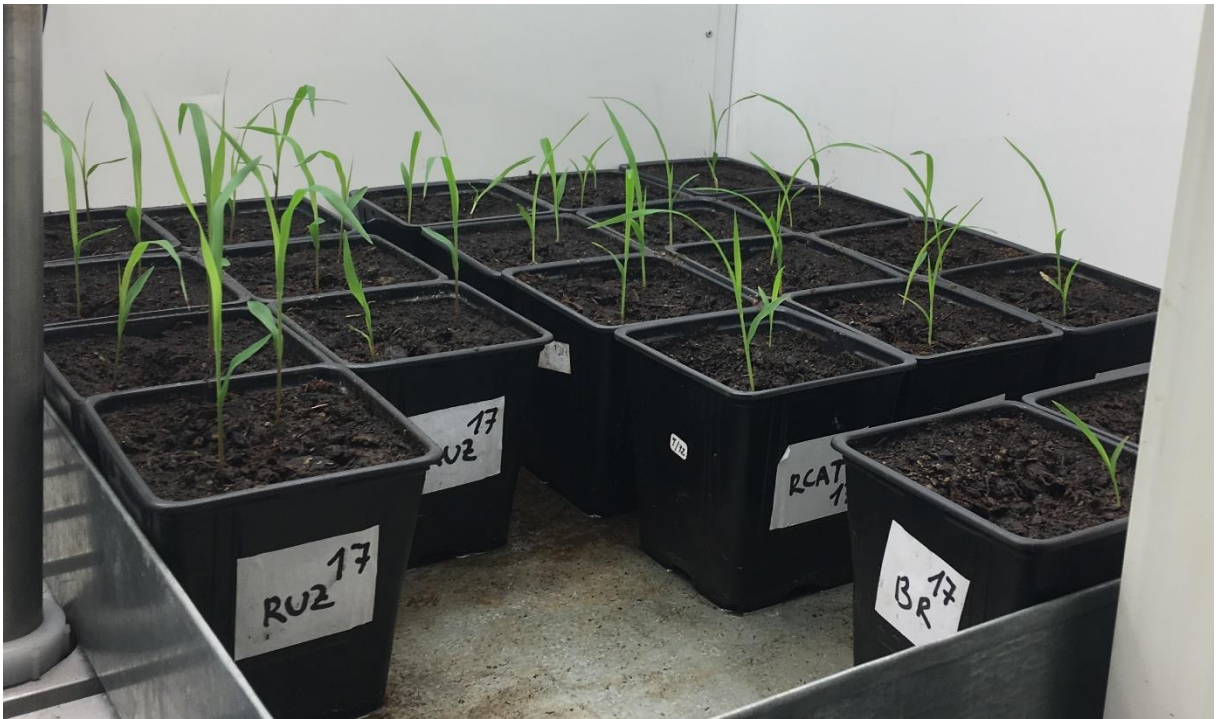
Obr. 16: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 17 °C ve 2. týdnu po přesazení



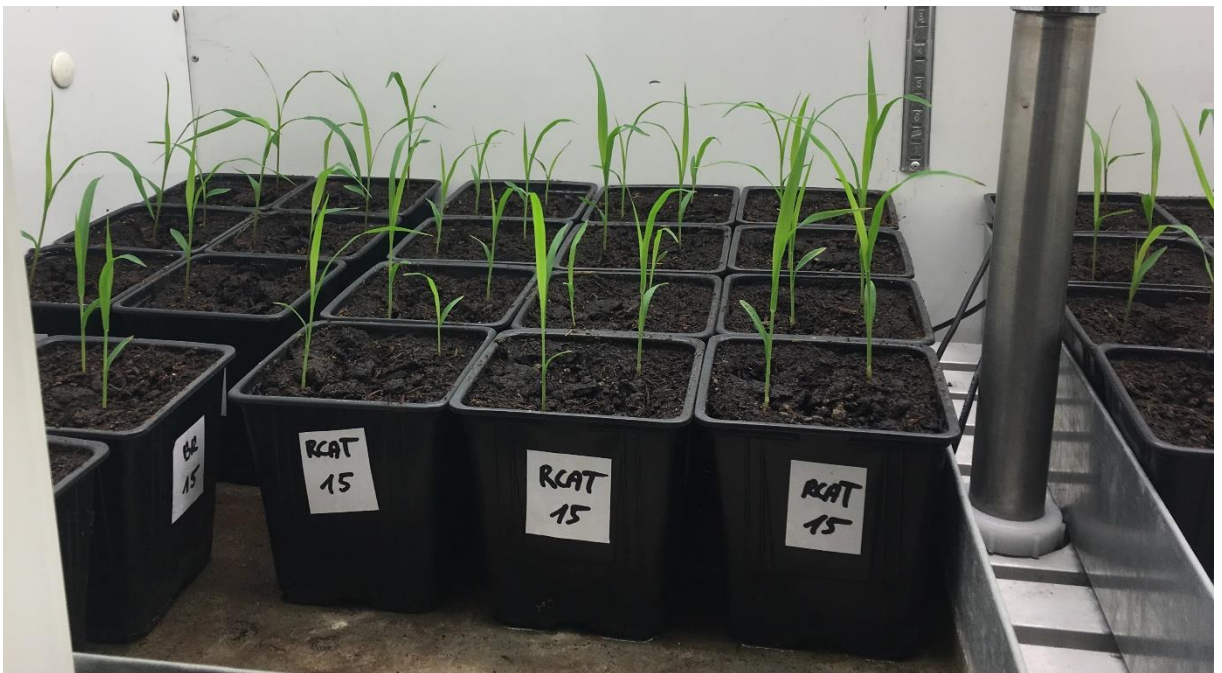
Obr. 17: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 15 °C ve 2. týdnu po přesazení



### 10.10.2 Rostliny 3. týden po přesazení

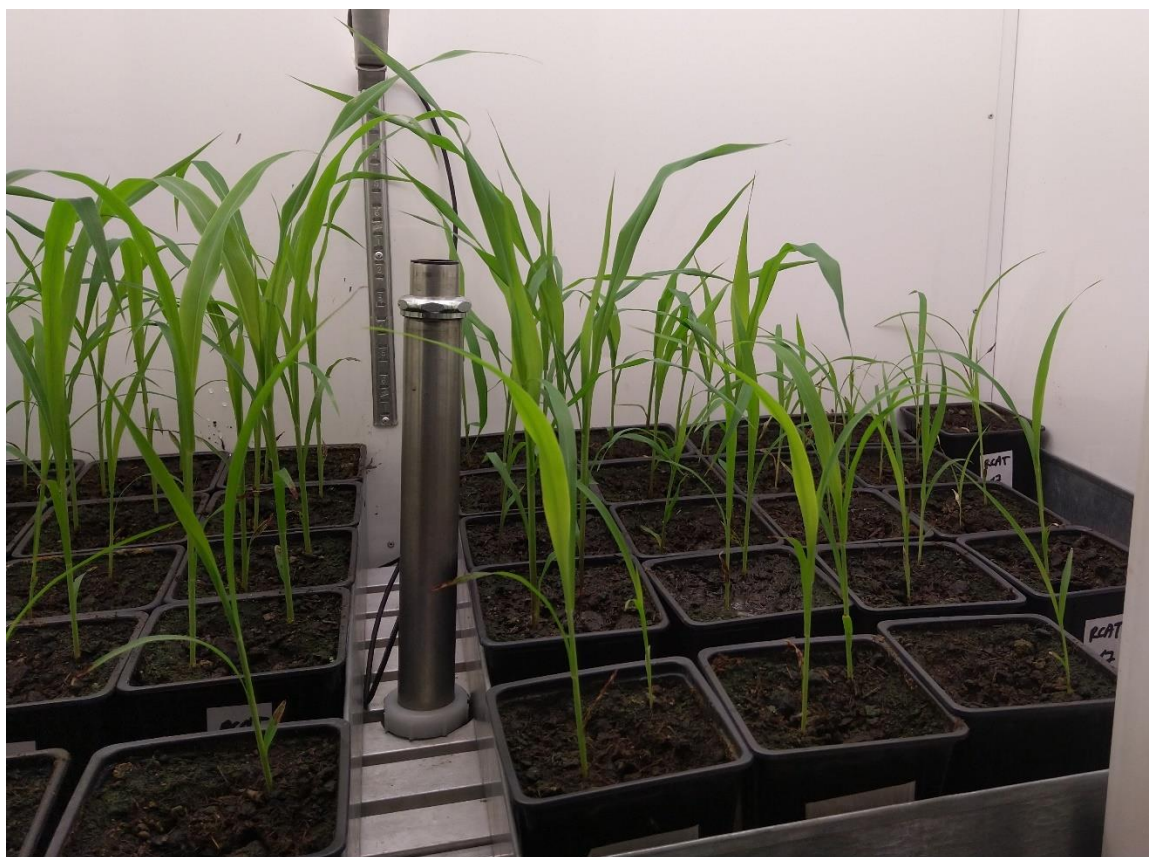


Obr. 18: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 17 °C ve 3. týdnu po přesazení

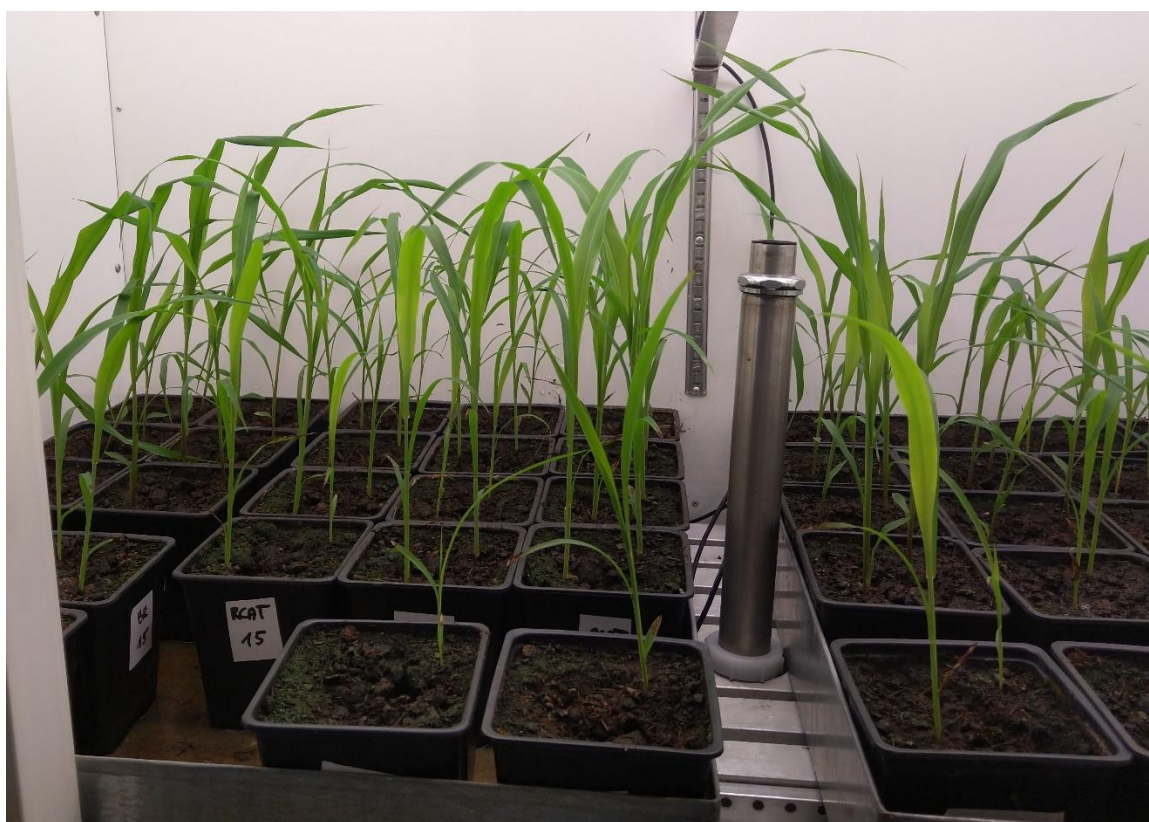


Obr. 19: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 15 °C ve 3. týdnu po přesazení

### 10.10.3 Rostliny 4. týden po přesazení



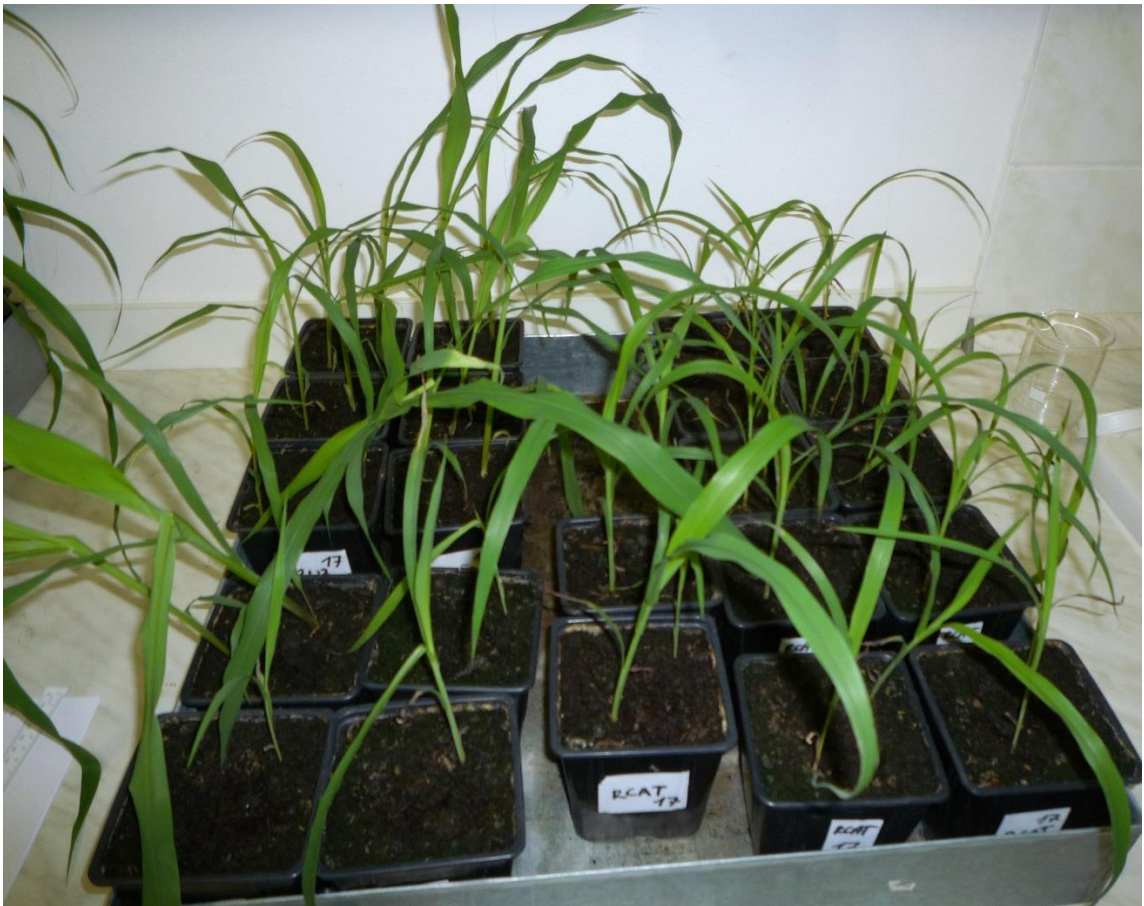
Obr. 20: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 15 a 17 °C ve 4. týdnu po přesazení



Obr. 21: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 15 °C ve 4. týdnu po přesazení



#### 10.10.4 Rostliny 5. týden po přesazení



Obr. 22: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 17 °C v 5. týdnu po přesazení



Obr. 23: Rostliny testovaných odrůd klíčené při teplotě 15 °C v 5. týdnu po přesazení